

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis
Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

Mémoire de fin d'études

Présenté par :

Benattia Hadj Abdelrahmane

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Sciences alimentaires

Spécialité : Production et Transformation Laitières

Thème

**Effets technologiques
et probiotiques des lactobacilles isolés
à partir de miels**

La date de dépôt 03/10/2021

Devant les membres du jury

Président	M. Benameur Qada	M.C.A	U. Mostaganem
Examineur	Mme Tahlaiti Hafida	M.C.A	U. Mostaganem
Encadrant	Melle Homrani Mounia	M.A.B	U. Mostaganem

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2020-2021



Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, je tiens à remercier ma directrice de mémoire Melle HOMRANI Mounia pour la qualité de son encadrement, l'aide précieuse qu'elle m'a apportée, ses conseils éclairés et les remarques constructives tout au long de la préparation de ce mémoire.

Je remercie vivement M BENAMEUR Qada, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Aussi, mes sincères remerciements à Mme TAHLAITI Hafida d'avoir accepté d'évaluer mon travail au sein du jury de soutenance.

Ces remerciements ne sauraient être complets si j'omets de citer les Enseignants de ma promotion en Production et Transformation Laitière : Mme TAHALAITI, Mme RECHIDI-SIDHOUM, Mr DAHOU, Mr HOMRANI, Mr BOUCHERF, Melle MEGHOUFEL et Melle HOMRANI qui, par leur enseignement, ont contribué à ma formation durant les deux ans de Master.

Je tiens tout particulièrement à remercier M BENHARRAT Nouredine Ingénieur du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale ainsi que mes camarades de la promotion.

Enfin, je remercie le Directeur de Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale de Hassi-Maméche <<Mostaganem >>.

MERCI A TOUS...





Dédicaces

*À mon très cher père BENTTIA charef qui m'a
encouragé et soutenu pendant mes longues
Années d'études*

*À ma très chère mère BENYAMINA Touatia, qui m'a
toujours encouragé, soutenu pendant mes longues
Années d'études et donné de l'amour. J'implore le tout-
puissant pour qu'il te protégé, t'accorde une bonne santé et une vie
longue et heureuse. Je souhaite que tu restes toujours près
de nous.*

*À tous mes chers amis et en particulier à Houari,
Oussama, Ismail, Abderlrahmen et Mourad*

*À tous mes enseignants depuis mes premières années
d'études et plus spécialement à M Bouchoucha*

*Enfin, à ma promotion de Master en
Production et Transformation Laitière
2021.*



Résumé

Ces dernières années un regain d'intérêt a été porté sur les bactéries lactiques et plus particulièrement le genre *Lactobacillus* en raison de leurs utilités dans le domaine de la biotechnologie. Ainsi, la présente étude avait pour objectifs d'évaluer les caractéristiques probiotiques et les aptitudes technologiques de souches de *Lactobacillus plantarum* isolées à partir de miels algériens. Au total six (N=06) souches ont été testé. Dans un premier temps nous avons confirmé l'appartenance de ses bactéries au genre *Lactobacillus* par l'observation de l'aspect macroscopique, le test de catalase et la coloration de Gram. Par la suite, nous avons testé leurs aptitudes technologiques à savoir : Le pouvoir acidifiant, texturant, aromatisant, protéolytique, lipolytique et la production d'EPS ; puis nous avons déterminé leurs effets probiotiques par l'évaluation de leurs capacités à résister à l'acidité, aux sels biliaires ainsi que leur pouvoir antibactérien. Enfin nous avons utilisé une des souches testées pour la fabrication d'un fromage frais. Les résultats ont révélé que les souches étudiées présentent une bonne force de coagulation et d'acidification, ce qui nous a permis de les utiliser pour la fabrication de fromage frais. Les aptitudes probiotiques de certaines souches de *Lactobacillus plantarum* étudiées se sont révélées très intéressantes. En conclusion, on peut dire que les souches de *Lactobacillus plantarum* isolées de miels révèlent de bonne propriétés technologiques et probiotiques. Ils peuvent donc être exploitées dans l'industrie agroalimentaire et plus particulièrement laitière.

Mots clés : *Lactobacillus plantarum*, effets technologiques, Miel d'abeille, effets probiotiques

Abstract

In recent years, there has been renewed interest in lactic acid bacteria and more particularly *Lactobacillus* genus because of their usefulness in the field of biotechnology. Thus, the objectives of the present study were to evaluate the probiotic characteristics and the technological aptitudes of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Algerian honey. A total of six (N = 06) strains were tested. First, we confirmed the membership of its bacteria to the genus *Lactobacillus* by the observation of the macroscopic appearance, the catalase test and the Gram stain. Subsequently, we tested their technological abilities, namely: The acidifier, texturizing, aromatizing, proteolytic, lipolytic power and EPS production; then we determined their probiotic effects by evaluating their ability to resist acidity, bile salts and its effect on pathogenic bacteria. Finally, we used one of the strains tested for the production of fresh cheese. The results revealed that the studied strains exhibit good coagulation and acidification strength, which allowed us to use them for the production of fresh cheese. The probiotic proprieties of some *Lactobacillus plantarum* strains studied are so interesting. In conclusion, we can say that the *Lactobacillus plantarum* strains isolated from honey show good technological and probiotic properties. They can therefore be used in the food industry and more particularly in the dairy industry.

Key words: *Lactobacillus plantarum*, technological effects, Bee honey, probiotic effects

ملخص

. في السنوات الأخيرة، كان هناك اهتمام متجدد ببكتيريا حمض اللاكتيك وعلى وجه الخصوص جنس *Lactobacillus* بسبب فائدتها في مجال التكنولوجيا الحيوية. وبالتالي، فإن أهداف هذه الدراسة هي تقييم خصائص الكائنات الحية المجهرية والقدرات التكنولوجية لسلاسلات *Lactobacillus plantarum* المعزولة من عسل النحل الجزائري. تم اختبار ما مجموعه ستة (N = 06) سلالات. أولاً، أكدنا عضوية البكتيريا الخاصة بها في جنس *Lactobacillus* من خلال ملاحظة المظهر العياني واختبار الكاتالاز وصبغة غرام. بعد ذلك، قمنا باختبار قدراتهم التكنولوجية، وهي: القدرة على التخمير، والقوام، والنكهة، والمحللة للبروتين، والمحلل للدهون، وقوة إنتاج EPS؛ ثم حددنا تأثيرات الروبوتيك الخاصة بهم من خلال تقييم قدرتها على مقاومة الحموضة والأملاح الصفراوية وقوتها المضادة للبكتيريا. أخيراً، استخدمنا إحدى السلالات المختبرة لإنتاج الجبن الطازج. أظهرت النتائج أن السلالات المدروسة تبدي تجلطاً جيداً وقوة تحمضيه، مما سمح لنا باستخدامها لإنتاج الجبن الطازج. أثبتت قدرات الكائنات الحية المجهرية لبعض سلالات *Lactobacillus plantarum* التي تمت دراستها أنها مثيرة للاهتمام للغاية. في الختام، يمكننا القول أن سلالات *Lactobacillus plantarum* المعزولة من العسل تظهر خصائص تكنولوجية وبيرو بيوتيك جيدة. لذلك يمكن استخدامها في صناعة الأغذية وخاصة في صناعة الألبان.

. الكلمات المفتاحية: *Lactobacillus plantarum*، التأثيرات التكنولوجية، عسل النحل، تأثيرات الكائنات الحية المجهرية

Liste des abréviations

°C : Degrés Celsius

°D : Degrés Dornic

DAA : diarrhées associées à l'antibiothérapie

DO : Densité Optique

EC : *Escherichia coli*

EPS : exopolysaccharide

FAO : Food and Agriculture Organization

h : heures

H₂O₂ : L'eau oxygène

L : litre

Lb : *Lactobacillus*

ml : mili-litre

MRS : DeMan, Rogosa et Sharpe

NaOH : Hydroxyde de sodium

pH : Potentiel hydroélectrique

SB : sels biliaires

STF : *Staphylococcus aureus*

STR : *Streptococcus thermophilus*

Subsp : subspecie (sousespèce)

TNF: Tumor Necrosis Factors

UFC : Unité Formant Colonie

μL : micro-litre

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Micro-organismes répertoriés dans le miel (Olaitan <i>et al.</i> , 2007 ; Sib, 2007)	8
Tableau 2	Le genre <i>Lactobacillus</i> d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Fidirighi,2005).	11
Tableau 3	Les propriétés générales d'un probiotique (Rousseau,2004)	19
Tableau 4	Critères de sélections utilisés aux laboratoires pour le screening des probiotiques (Nousiainen <i>et al.</i> , 2004)	22
Tableau 5	Listes des souches lactiques utilisées dans cette étude	26
Tableau 6	Résultats de la pré-identification des isolats	35
Tableau 7	Suivi du pH et de l'acidité dornic (°D) des souches de <i>Lactobacillus plantarum</i>	36
Tableau 8	Résultats de l'effet inhibiteur des souches de <i>Lb. plantarum</i> vis-à-vis des souches indicatrice.	46

N° Figure	Titre	Page
Figure 1	<i>Lactobacillus casei</i> observé au microscope électronique (Corrieu & Luquet, 2008).	11
Figure 2	Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr16S (Stiles et Holzapfel, 1997).	11
Figure 3	Observation macroscopique des <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le milieu MRS liquide	33
Figure 4	Observation macroscopique des colonies de <i>Lactobacillus plantarum</i> (LB76) sur milieu MRS	34
Figure 5	Observation microscopique de <i>Lactobacillus plantarum</i> après coloration de Gram (x1000).	34
Figure 6	Catalase négative de bactéries lactobacilles	35
Figure 7	Courbe d'acidification de la souche LB 43	37
Figure 8	Courbe d'acidification de la souche LB 49	37
Figure 9	Courbe d'acidification de la souche LB 50	38
Figure 10	Courbe d'acidification de la souche LB 76	38
Figure 11	Courbe d'acidification de la souche LB 89	39
Figure 12	Observation des résultats obtenus pour l'activité protéolytique des souches de <i>Lactobacillus plantarum</i> .	40
Figure 13	Observation des résultats de la lipolyse des souches de <i>Lb. plantarum</i>	41
Figure 14	Observation des résultats de la production des EPS des <i>Lactobacillus plantarum</i> .	42
Figure 15	Observation des résultats de la Production d'acétoïne des souches <i>Lactobacillus</i>	43
Figure 16	Observation des résultats de croissance des souches <i>Lb. plantarum</i>	44
Figure 17	Résultats de la résistance des souches de <i>Lb. plantarum</i> aux milieux acides.	44
Figure 18	Résultats de la résistance des souches de <i>Lb. plantarum</i> aux sels Biliaires	45
Figure 19	Résultat de caillé obtenu après égouttage de lactosérum	47
Figure 20	Résultats du produit fini (fromage) après étuvage de 3h.	48

Liste des annexes

Annexes	Titre	Page
Annexe A	Les milieux de culture	52
Annexe B	Les étapes de la coloration de Gram	55
Annexe C	Liste du matériel utilisé	56

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Abréviations, sigles, acronymes et symboles

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Introduction.....1

Partie I : Synthèse bibliographique

I- Les bactéries lactiques.....	4
I-1- Définition et Historique	4
I-2-Habitat et origine des bactéries lactiques.....	4
I-3-Taxonomie des bactéries lactique	5
I-4-Miel et bactéries lactiques.....	6
II- Propriétés technologiques et probiotiques des lactobacilles.....	10
II-1-Caractéristiques générales	10
II-2 Propriétés technologiques des lactobacilles.....	11
II-2-1- Affinage des fromages.....	11
II-2-2- Fabrication du yaourt.....	11
II-2-2-1- Acidification	11
II-2-2-2- Aromatisation	12
II-2-2-3- Texture.....	12
II-2-2-4- Aptitude protéolytique	12
II-2-2-5- Aptitude lipolytique	13
II-2-2-6- Pouvoir aromatisant	13
II-2-2-7- Pouvoir texturant	14
II-2-2-8- Bio-préservation des produits laitiers	14
II-3-Propriétés probiotiques des lactobacilles.....	14
II-3-1- Définition et Historique du terme « probiotique »	14
II-3-2- Les principales propriétés probiotiques des lactobacilles	15
II-3-2-1- Diminution des diarrhées associées à l'antibiothérapie.....	15
II-3-2-2- Amélioration de la digestion du lactose	15
II-3-2-3- Inhibition des bactéries pathogènes.....	16
II-3-2-4- Effets sur l'immunité systémique et intestinale	16
II-3-2-5- Action sur le syndrome d'irritabilité intestinale chronique.....	17
II-3-2-6- Effet anticancérigène	17
II-3-2-7- Effet sur la maladie de Crohn.....	17
II-3-3- Critères de sélection des probiotiques.....	18
II-3-3-1- Critères de salubrité.....	18
II-3-3-2- Habilité à survivre dans les produits agroalimentaires et durant le stockage.....	18

Table des matières

II-3-3-3- Résistance à l'acidité	19
II-3-3-4- Résistance aux sels biliaires	19
II-3-3-5- Adhésion aux cellules intestinales.....	19
II-3-3-6- Production de substances antimicrobiennes	20
II-3-3-7- Résistance aux antibiotiques	20

Partie II: Etude expérimentale

I- Matériel et méthodes

I-1-Lieu et durée du travail	23
I-2- Objectifs de l'étude.....	23
I-3-Appareillage	23
I-4- Produits chimiques et réactifs	23
I-5-Matériel Biologique	23
I-5-1- La présure	23
I-5-2- Souches de <i>Lactobacillus plantarum</i>	24
I-5-3- Les souches indicatrices	24
I-5-4- Les Milieux de culture	24
I- 6- Méthodes.....	25
I-6-1- Revivification des souches lactiques.....	25
I-6-2- Purification des souches.....	25
I-6-3- Confirmation de l'appartenance au groupe lactique	25
I-6-4- Etude des aptitudes technologiques des souches de <i>Lactobacillus plantarum</i>	26
I-6-5- Etude du potentiel probiotique	27
I-4-6- Fabrication de fromage.....	28

II- Résultats et discussion

II-1- Examen macroscopique.....	31
II-2- Examen microscopique.....	32
II-3- Test de production de catalase.....	32
II-4- Etude des aptitudes technologiques des souches de <i>Lactobacillus plantarum</i>	33
II-4-1- Cinétique d'acidification	33
II-4-2- Pouvoir protéolytique	36
II-4-3- Activité lipolytique.....	37
II-4-4- Pouvoir texturant	38
II-4-5- Pouvoir aromatisant.....	39
II-5- Etude du potentiel probiotique	40
II-5-1 Résistance à l'acidité.....	41
II-5-2- Résistance aux sels biliaires	41
II-5-3-Pouvoir antibactérien	42
Conclusion.....	47
Les Annexes	48
Références bibliographiques	58
Résumé	70



Introduction

L'utilisation de produits synthétiques en industrie agroalimentaire a eu comme conséquence négative l'apparition des maladies dites de civilisation (Hamed, 2008). En effet, l'alimentation est susceptible de moduler diverses fonctions de l'organisme, et peut aussi contribuer à diminuer le risque de certaines pathologies. De ce fait, à l'échelle mondiale, les consommateurs sont devenus plus attentifs à leur mode de vie et plus particulièrement leur alimentation, cherchant ainsi, une alimentation plus saine.

Ces dernières années, un regain d'intérêt a été porté sur l'utilisation des bactéries lactiques pour des applications alimentaires, pharmaceutiques ou encore en alimentation animale (Léonard, 2013). Ces microorganismes sont largement utilisés, dans les procédés de fermentations afin de répondre aux exigences croissantes des consommateurs en produits alimentaires moins traités et exempts de conservateurs chimiques (Mehidi, 2015). De plus, certaines souches de bactéries lactiques ont des effets bénéfiques sur la santé humaine et sont utilisées tant que « probiotique ».

Le genre *Lactobacillus* est le plus grand groupe des bactéries lactiques et comprend plus de 110 espèces répertoriées (Darsanaki *et al.*, 2013). Les lactobacilles sont des bâtonnets à Gram positif, anaérobies mais aéro-tolérants, non sporulants et catalase négatifs (Agaliya et Jeevaratnam, 2013). Ils sont généralement reconnus comme étant sains, 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. Par ailleurs, la contribution la plus importante de l'ajout de ces souches au produit est l'amélioration de sa qualité (saveur, texture) et son innocuité par l'intermédiaire de l'allongement de sa durée de vie et de l'inhibition de la flore compétitive d'altération et des bactéries pathogènes (Mechai, 2009). Ces propriétés de conservation sont le résultat des propriétés inhibitrices des bactéries lactiques qui incluent la compétition pour les nutriments, les changements physico-chimiques du milieu, tels que l'acidification et la production de métabolites antimicrobiens tels que le peroxyde d'hydrogène, de l'acétyle, de l'acétaldéhyde et des bactériocines (O'Sullivan *et al.*, 2002).

Le miel est une substance naturelle sucrée produite par les abeilles à partir de nectar et /ou de miellat. Ce produit, le plus souvent connu pour ses valeurs nutritionnelles, énergétiques et curatives, pourrait également être utilisé comme source de microorganismes à effet bénéfique pour la santé, notamment les bactéries du genre *Lactobacillus* (Homrani, 2020).

Dans cet optique, nous avons d'un côté étudié les effets probiotiques de souches de *Lactobacillus plantarum* isolées à partir de miels ainsi que leurs aptitudes technologiques et d'un autre côté nous avons fait un essai de fabrication de fromage frais à partir d'une de ces souches.



Première partie :
Revue bibliographique



Chapitre I

Les bactéries lactiques

I- Les bactéries lactiques

I-1- Définition et Historique

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes en forme de coques ou de bâtonnets, Gram positif, incapables de produire la catalase (certaines souches possèdent une pseudo-catalase), généralement immobiles et asporulées (Dellagio *et al.*, 1994). En présence d'oxygène elles sont incapables de phosphorylation oxydative. De nombreuses bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, facteurs de croissance, peptides, base purique et pyrimidique, des vitamines B et des acides gras. Elles ont également une activité aromatique très importante d'où leur utilisation en agroalimentaire (Leveau *et al.*, 1991). Sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques sont homofermentaires ou hétérofermentaire (Dortu, 2008), et tolèrent des pH acides. Cette dernière propriété est utilisée en agroalimentaire pour acidifier le milieu et empêcher le développement des bactéries pathogènes et d'altérations (Nielsen *et al.*, 2008).

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme. Elles interviennent dans la préparation des laitages fermentés, et sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons. Elles améliorent la conservation, et agissent sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celles de l'aliment à son état originel (Dortu, 2008).

Les bactéries lactiques sont connues depuis le début du XXe siècle par Orla-Jensen (1919), et sont définies comme des microorganismes GRAS, ce sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (De Roissart, 1986). Leur métabolisme est strictement fermentaire. Elles fermentent le lactose en acide lactique et selon le produit final de cette fermentation lactique, elles sont dites homolactiques si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactiques si d'autres composées sont aussi présente comme l'acide acétique, éthanol, et CO₂ (Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet *et al.*, 2005).

I-2- Habitat et origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, elles peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physicochimique et

biologique (De Roissard et Luquet,1994). Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux, et peuvent aussi coloniser le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveau et Bouix,1993).

I-3-Taxonomie des bactéries lactique

Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries unies par une constellation de caractéristiques morphologiques, métaboliques et physiologiques. Elles appartiennent à la lignée des *Fimicutes*, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales* (Garrity et al., 2004). Phylogénétiquement, elles appartiennent au phylum des *Clostridium* des bactéries Gram positif (G+C < 50 mol%). Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé en raison du contenu G+C > 50 mol% et affecté au phylum des *Actinomyces* (figure 5) Néanmoins, les bifidobactéries sont également considérées comme des bactéries lactiques, en raison de leurs propriétés physiologiques et biochimiques semblables,(elles produisent de l'acide lactique et sont utilisées dans les laits fermentés) et du fait qu'elles partagent certaines niches écologiques communes aux bactéries lactiques tel que le tractus gastro-intestinal (Holzapfel et al., 2001).

Selon (Stiles et al., 1997 ; Axelsson, 2004), les bactéries lactiques englobent les genres suivants : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactosphaera*, *Vagococcus* et *Weisella*. Néanmoins, c'est surtout *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Weisella* et à grande échelle *Lactobacillus*, qui ont une certaine importance dans les aliments (Vandamme et Pote, 1996). La relation phylogénétique entre les différents genres des bactéries lactiques est représentée sur la **figure 01** et est basée sur la comparaison des séquences d'ARN16S. *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Lactosphaera* sont étroitement apparentés les uns aux autres. *Lactococcus* et *Streptococcus* apparaissent comme relativement apparentés, alors que *Lactobacillus* est phylogénétiquement distinct.

Récemment 15 genres lactiques ont été décrits (*Abiotrophia*, *Dolosicoccus*, *Ermecoccus*, *Facklamia*, *Ignavigranum*, *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Desemzia*, *Granulicatella*, *Isobaculum*, *Marini*, *Lactobacillus*, *Trichococcus*, *Atopobacter*, *Paralactobacillus*, *Oscillospira*). Parmi ces 15 nouveaux genres, seul *ParaLactobacillus* est d'origine alimentaire (Leisner et al., 2000 ; Bahloul et al., 2012).

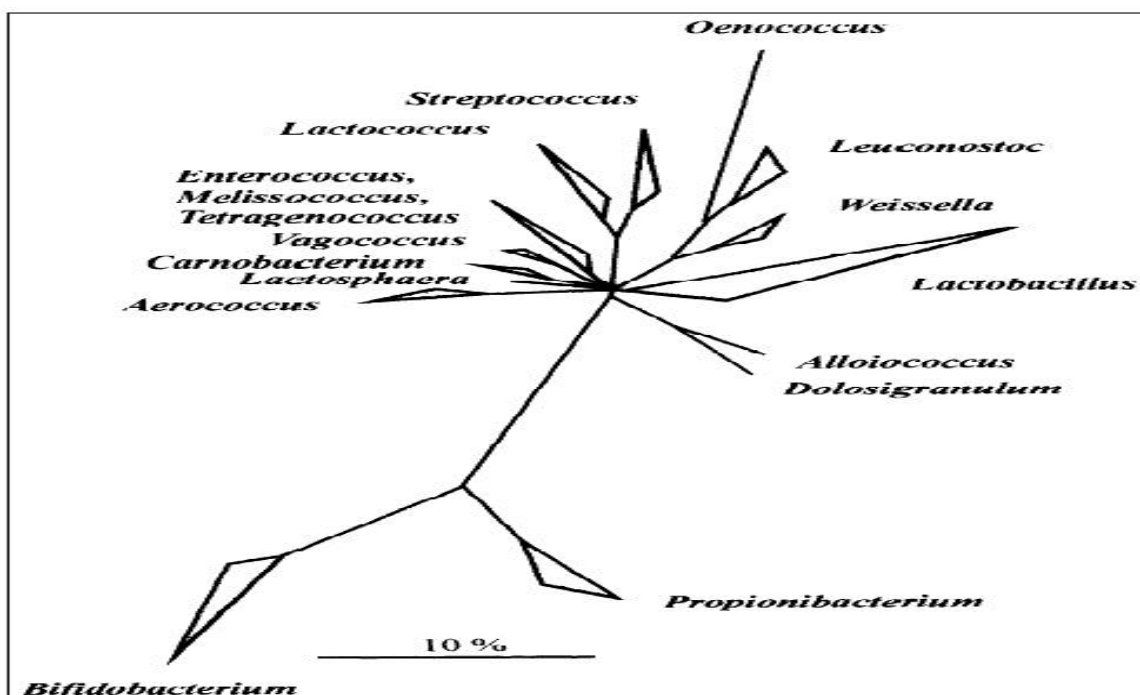


Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr16S (Stiles et Holzapfel,1997).

I-4-Miel et bactéries lactiques

Le miel est une substance naturelle, produite par les abeilles, à partir de nectar et/ou de miellat. Ce produit est très prisé par les consommateurs en raison de ses propriétés thérapeutiques et nutritionnelles. Cependant, contrairement à l'idée généralement conçue, ce produit n'est pas stérile (Mounia *et al.*, 2018). Il contient des microorganismes. Parmi les microorganismes détectés dans le miel il y a des bactéries, des levures et des champignons comme le montre l'illustration (Tableau 01).

Les bactéries lactiques font partie des microorganismes présents dans le miel. Plusieurs études ont démontré la présence de différents genres de bactéries lactiques dans le miel (Aween *et al.*, 2012 ; Homrani *et al.*,2019). En effet, Pour la production de miel, les abeilles ingèrent du nectar et le transforment à l'aide d'enzymes. Au-delà des enzymes, ils incorporent certains micro-organismes symbiotes associés au tractus gastro-intestinal qui peuvent être bénéfiques pour la santé humaine dont les bactéries lactiques (Endo et Salminen., 2013). Récemment 13 espèces taxonomiquement identifiées de *Lactobacillus* (9 spp.) et *Bifidobacterium* (4 spp.) ont été trouvées dans le miel frais dont plupart sont des espèces décrites pour la première fois (Piccart *et al.*, 2016). Les bactéries lactiques fructophiles (FLAB) sont un groupe spécial de bactéries lactiques, qui préfèrent métaboliser le fructose et non le glucose comme on l'observe normalement (Endo *et al.*, 2009). Ces microorganismes principalement l'espèce *Lactobacillus kunkee* ont été isolée à partir de miels frais. En plus de BL

(bactéries lactiques) unique des abeilles mellifères, le miel peut également contenir d'autres souches de BL qui sont beaucoup plus répandues, par exemple *Enterococcus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. paracasei* (Aween *et al.*, 2012 ; Hasali *et al.*, 2015 ; Bulgasem *et al.*, 2016 ; Olofsson *et al.*, 2016 ; Homrani *et al.*, 2019). D'après certains auteurs, certaines caractéristiques du miel tel que la saveur, l'arôme et la texture sont en partie dues aux métabolites produits par les bactéries lactiques présentes dans le jabot de l'abeille (Mato *et al.* 2006 ; Olofsson et Vasquez, 2008).

Cependant la plupart de ces bactéries ne peuvent pas se développer ou se reproduire dans le miel, car celui-ci possède une activité antibactérienne et perdent leur viabilité avec les temps (Homrani, 2020). En effet, lorsque l'on inocule différentes bactéries dans un miel stérilisé à 20°C, les bactéries ne résistent pas plus d'une quinzaine de jours (Harris, 1994) Seules les spores produites par les microorganismes peuvent survivent jusqu'à 4 mois après. Cependant si le miel est mis dans de l'eau, alors la croissance bactérienne est possible. Elle est toutefois minime lorsque l'on sait qu'en associant du miel et de l'eau à hauteur de 50% chacun, la présence bactérienne n'excède pas 40 jours (Olaitan et Adeleke, 2007). La mise en culture du miel dans des milieux sélectifs favorisent la croissance des bactéries souhaitées et permet leur revivification.

Tableau 1 : Micro-organismes répertoriés dans le miel (Olaitan *et al.*, 2007 ; Sib, 2007).

Bactéries	Levures	Champignons
<i>Alcaligenes</i>		
<i>Achromobacter</i>		
<i>Bacillus</i>		
<i>Bacteridium</i>	<i>Ascophaera</i>	<i>Asperhillus</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Debaromyces</i>	<i>Alihia</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Bettsia alvei</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Lipomyces</i>	<i>Cephalosporium</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Nematospora</i>	<i>Chaetomium</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Oosporidium</i>	<i>Coniothecium</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Pichia</i>	<i>Hormiscium</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Peronsporaceae</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Scizosaccharomyces</i>	<i>Peyronelia</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Trichosporium</i>	<i>Triposporium</i>
<i>Neisseria</i>	<i>Torula</i>	<i>Uredianaceae</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Torulopsis</i>	<i>Ustilaginaceae</i>
<i>Xanthomonas</i>	<i>Zygasaccharomyces</i>	
<i>Enterococcus</i>		
<i>Lactobacillus</i>		
<i>Bifidobacterium</i>		

I-4-1- Le genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles font partie des microorganismes à effet bénéfique pour la santé le plus étudiés dans le miel. Certaines études suggèrent que le caractère antimicrobien du miel est en partie dû à l'activité des bactéries lactiques dont le genre *Lactobacillus* dans le miel (Aween *et al.*, 2012). En effet, Le nectar

stocké dans l'estomac de l'abeille est régurgité dans les rayons de la ruche dont la température de 35°C, qui correspond à la température optimale pour le développement des bactéries lactiques et la production de métabolites ayant un pouvoir antibactérien (Jones., 2004 ; Olofsson *et al.*, 2014). Ces substances produites par les bactéries lactiques sont présentes dans le miel frais et stockées dans le miel mûr. Par ailleurs les travaux de Olofsson *et al.* (2014) mettent notamment en évidence le rôle important des lactobacilles dans le système immunitaire de l'abeille, y compris sur *Paenibacillus larvae* (bactérie de la loque américaine).



Chapitre II

Propriétés technologiques et probiotiques des lactobacilles

II- Propriétés technologiques et probiotiques des lactobacilles

II-1- Caractéristiques générales

Ce genre regroupe plus de 70 espèces (dont plusieurs sont divisées en sous-espèces). Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques et est généralement reconnu comme étant sain, de statut "GRAS".

Les lactobacilles, regroupent un nombre très important d'espèces qui jouent généralement un rôle favorable et protecteur pour la conservation des aliments, comme pour la santé humaine et animale. Ainsi, parmi les probiotiques utilisés comme alicament, les lactobacilles sont très largement représentés.

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, Gram positif, anaérobies mais aérotolestants, 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).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (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. sanfrancisco*.

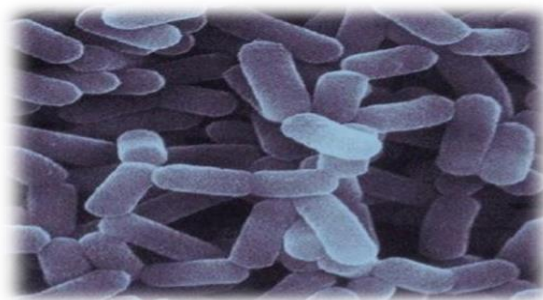


Figure 02 : *Lactobacillus casei* observé au microscope électronique (Corrieu & Luquet, 2008).

Tableau 2 : le genre *Lactobacillus* d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Fidirighi,2005).

Genre	Morphologies	Fermentations	Caractéristiques principales	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaires ou hétérofermentaires	Thermophiles ou mésophiles	Homme, produits laitiers carnés, Végétaux

II-2 Propriétés technologiques des lactobacilles

Les lactobacilles sont utilisés dans plusieurs domaines dont la manufacture des produits laitiers comme cultures starters, ils participent aussi dans la fabrication du pain, les ensilages, et sont aussi proposés comme bio-préservant naturels dans les produits non fermentés (DeAngelis et Gobetti, 2004). Leur métabolisme fermentaire leur permet, une fois, dans un produit donné d'abaisser le pH de celui-ci. Par cette chute du pH l'aliment ce voie protégé du fait de l'inhibition des bactéries putréfiantes, en plus de ça, les lactobacilles augmentent la valeur nutritive de l'aliment auquel elles sont ajoutées ; ceci est dû encore une fois à la production d'acide lactique qui par diminution du pH provoque la libération des acides aminés essentiels et de vitamines (Slover et Danziger,2008).

II-2-1- Affinage des fromages

L'affinage est étroitement relié à la production de protéases et d'autres enzymes. Ces enzymes doivent être produits en quantité suffisante afin de libérer les différentes textures et le maximum d'arômes attribués aux différents types de fromages. L'activité des peptidases est plus importante que celle des protéinases (Visser *et al.*, 1983). Par exemple, les peptidases des lactobacilles utilisés en culture starter, hydrolysent les peptides (incluant ceux liés à l'arôme) en contribution avec d'autres enzymes microbiennes, produisent un environnement idéal au développement d'un arôme typique du cheddar (Trepanier *et al.*, 1991).

II-2-2- Fabrication du yaourt

II-2-2-1- Acidification

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques. Utilisées dans les industries alimentaires, elles manifestent 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

Chapitre II Propriétés technologiques et probiotiques des lactobacilles

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 ;
- L'imitation des risques de développement de flore pathogène et d'altération dans les produits finaux
- Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.

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

II-2-2-2- Aromatisation

L'arôme idéal d'un yaourt est un mélange équilibré de l'acidité et de l'acétaldéhyde. Ce processus est réalisé lors de la sélection des souches, de l'équilibre entre les bacilles et les Cocci et lors du contrôle de la fermentation. La source principale de l'acétaldéhyde provient de la conversion de la théorine en acétaldéhyde, cette réaction est catalysée par la théroïne aldolase de *Lb. delbruekii subsp bulgaricus* (Hickey *et al.*, 1983). Certains lactobacilles comme *Lb. acidophilus*, produisent de l'alcool déshydrogénase, cette dernière convertie l'acétaldéhyde en éthanol (Marshall et Cole, 1983).

II-2-2-3- Texture

Le yaourt a une texture qui est déterminée par le traitement thermique sur la matrice du lait de base et par les cultures starter (Sodini *et al.*, 2004 ; Damin *et al.*, 2007). La texture d'un yaourt est la résultante d'une interaction complexe entre les protéines du lait, sont acidité et entre les polysaccharides exocellulaires produites par les cultures starter (Hassan *et al.*, 1995). Les propriétés les plus recherchées sont la finesse, la douceur et la viscosité. Les cultures starter peuvent influencer chacune de ces propriétés par la production d'exopolysaccharides, ces dernières sont produites soit sous forme de fibres soit sous, forme de capsules (Ariga *et al.*, 1992).

II-2-2-4- Aptitude protéolytique

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

Dans les fromages, l'activité des enzymes protéolytiques des bactéries lactiques est fondamentale car elle va participer à la formation du goût ou des arômes, la protéolyse due aux bactéries lactiques va surtout conduire à des peptides courts et à des acides aminés libres, Ces dernières sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arômes, En effet la méthionine peut conduire à des composés soufrés caractéristiques, ceci après leur dégradation par la flore d'affinage (Schirch *et al.*, 1985).

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 (Monnet *et al.*, 2008).

II-2-2-5- Aptitude lipolytique

L'activité lipolytique joue un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés, bien que parfois, elle soit à l'origine d'altérations (Franz *et al.*, 2003). Ces propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal *et al.*, 2008).

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

II-2-2-6- Pouvoir aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et 2,3- butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate 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 al.*, 1996 ; Cholet, 2006).

L'acétaldéhyde est un composant important de l'arôme des produits fermentés. Des exemples de bactéries productrices d'acétaldéhyde : *Lactococcus lactis ssp. Biovar lactis diacetylactis*,

Streptococcus thermophilus, et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (Walstra *et al.*, 1999).

II-2-2-7- Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important dans la consistance et la rhéologie des produits transformés (Leory et De Vuyst, 2004 ; Ho *et al.*, 2007). 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 "exopolysaccharide" (EPS) (Topisirovic *et al.*, 2006).

Les EPS ont l'avantage d'être « naturels », requis en faible concentration et ne peuvent être remplacé par les agents stabilisant pour 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).

Dans le cas des deux bactéries du yaourt : *Streptococcus thermophilus* ou (STR) et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, la production d'EPS est régulée par plusieurs gènes au niveau chromosomique (Cerning, 1995). Généralement, pour les bactéries thermophiles, la production d'EPS est associée à la croissance bactérienne (Pettry *et al.*, 2003).

II-2-2-8- Bio-préservation des produits laitiers

De par leur métabolisme, les lactobacilles agissent comme éléments protecteurs de la qualité hygiénique et sanitaire des produits laitiers qu'ils colonisent et ainsi augmenter la durée de vie de celui-ci. Cette protection s'effectue soit grâce à la production d'acides organiques qui en réduisant le pH du milieu inhibent la plupart des bactéries pathogène dont la majorité est neutrophile, soit par compétition pour les nutriments ou soit grâce à la production de substances dites bactériocines (Mami, 2007). Elle constitue une alternative pour la conservation des produits réfrigérés qui ont une durée de conservation de plusieurs jours à plusieurs semaines. Cependant, leur application exige une sélection ciblée des souches permettant de répondre au mieux aux caractéristiques des produits (Pilet *et al.*, 2005).

II-3-Propriétés probiotiques des lactobacilles

II-3-1- Définition et Historique du terme « probiotique »

Ce terme a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques (Ait-Belgnaoui *et al.*, 2006). En 1989, Fuller a proposé une définition plus proche du sens actuel : « supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique

Chapitre II Propriétés technologiques et probiotiques des lactobacilles

l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale ». Finalement, c'est en 2002 que la FAO (Food and Agriculture Organization) et l'OMS (Organisation mondiale de la santé ; WHO) ont formulé la définition suivante : « microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère ».

Il y a un siècle, Elie Metchnikoff (scientifique russe, lauréat du Nobel et professeur à l'Institut Pasteur à Paris) a suggéré que l'ingestion des bactéries lactiques offrait des bénéfices pour la santé conduisant à une plus grande longévité. Ainsi, Metchnikoff a affirmé que l'auto intoxication intestinale et que le vieillissement en résultant pouvait être supprimé en modifiant la flore microbienne de l'intestin et en remplaçant des microbes protéolytiques tels que *Clostridium*, par des microbes utiles, ceci explique que les paysans bulgares, grands consommateurs de laits fermentés, vivaient très vieux et en bonne santé. Quelques années plus tard, un médecin français, Henry Tissier a isolé une bifidobactérie à partir d'un enfant nourri au sein, et il l'a appelé *Bacillus bifidus communis*. Tout en affirmant que la bifidobactérie réduirait la bactérie protéolytique qui cause la diarrhée, Tissier a suggéré qu'il y avait une possibilité d'administrer aux enfants souffrant de ce symptôme. Le terme probiotique fut d'abord introduit en 1965 par Lilly et Stillwell par contraste avec les antibiotiques.

II-3-2- Les principales propriétés probiotiques des lactobacilles

Les espèces les plus fréquentes et les plus rapportées dans la littérature sont du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* (Rokka et Rantamaki, 2010).

II-3-2-1- Diminution des diarrhées associées à l'antibiothérapie

Les diarrhées associées à l'antibiothérapie ou DAA ont une grande importance épidémiologique, et affectent une large portion des populations du monde. Les DAA sont un effet secondaire de la consommation à court ou à long terme d'antibiotiques. Plusieurs études ont clairement prouvé des diminutions dans les incidences des DAA par quelques espèces de *Lactobacillus* (Jonkers et Stockbrügger, 2007). Les probiotiques peuvent prévenir et restaurer les déséquilibres dus à l'antibiothérapie, et leur utilisation au tant qu'agent traitant contre les DAA présente un très grand intérêt. Plusieurs souches probiotiques ont été utilisées dans cette voie, comme par exemple : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, les résultats ont montré une diminution de l'incidence des diarrhées de 0-10% (Koning et al., 2008).

II-3-2-2- Amélioration de la digestion du lactose

Plusieurs personnes souffrent d'une intolérance au lactose due à un déficit congénital en enzyme β -galactosidase résultant à une incapacité à digérer le lactose. Cela dit ces mêmes personnes peuvent

assimiler le lactose présent dans le yaourt mieux que celui contenu dans le lait (Fuller, 1989). Cette assimilation peut s'expliquer par l'hydrolyse du lactose par les lactobacilles probiotiques durant leur métabolisme fermentaire (Salminen *et al.*, 2003). L'action bénéfique résulte de la présence de β -galactosidase dans les cellules bactériennes (Gilliland, 2001).

II-3-2-3- Inhibition des bactéries pathogènes

Certains lactobacilles inhibent dans différents essais la croissance de *Listeria monocytogenes* (Wilson *et al.*, 2004). Une des plus importantes propriétés des lactobacilles probiotiques est leur pouvoir de réduire et de prévenir les infections du tractus gastro-intestinal (Hutt *et al.*, 2006). L'habilité des espèces du genre *Lactobacillus* à inhiber plusieurs variétés de bactéries Gram positives ou Gram négatives est mieux connue. Cette inhibition est due soit à la production d'acides organiques, de peroxyde d'hydrogène ou de bactériocines (Homrani *et al.*, 2019). Ces bactériocines sont des substances ayant au moins une partie protéique, sécrétées par les lactobacilles ou par d'autres bactéries phylogénétiquement proches. Mais d'autres études ont confirmé que l'adhésion de ces mêmes bactéries à la muqueuse intestinale empêcherait l'attachement de bactéries pathogènes par compétition sur le substrat (Valenzuela *et al.*, 2008). En plus de l'inhibition envers les bactéries entéro-pathogènes, certains *Lactobacillus* exercent un grand pouvoir inhibiteur envers des staphylocoques à coagulase négative et *Staphylococcus aureus*, mais aussi sur d'autres pathogènes comme *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli* (Pham *et al.*, 2009).

II-3-2-4- Effets sur l'immunité systémique et intestinale

Les systèmes immunitaires spécifiques et non spécifiques n'ont pas atteint leur maturité au moment de la naissance. La colonisation du tube digestif par la flore intestinale est un stimulus essentiel impliqué dans la maturation des réponses immunitaires. Toutefois, l'impact spécifique de chaque espèce est encore mal connu. Les probiotiques ont rapidement été identifiés comme, potentiellement actif sur ces paramètres. Plusieurs travaux montrent l'impact du probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG sur la réponse post-vaccinale d'Ig A sécrétoires (Rochat, 2004). Les parois des espèces de *Lactobacillus* probiotiques stimulent les monocytes macrophages via le TLR-2. Il existe en effet une augmentation de la réponse des macrophages en présence d'acides lipoteichoïques, composant des membranes de bactéries Gram (+). Les cellules mononuclées périphériques humaines, stimulées par *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, ou *Lactobacillus helveticus* sécrètent de l'IL1 β , du TNF α et de l'IFN γ (Heyman et Heuvelin, 2006). Les propriétés immunologiques des probiotiques ont été largement étudiées, certains *Lactobacillus* tels que *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. plantarum* augmentent considérablement l'immunité systémique de la muqueuse

(Perdigon *et al.*, 2001).

II-3-2-5- Action sur le syndrome d'irritabilité intestinale chronique

Le syndrome d'inflammation intestinale chronique résulte d'un dysfonctionnement dans le tractus gastro-intestinal, qui se manifeste par des douleurs abdominales, des ballonnements, des diarrhées ou des constipations. La consommation de lactobacilles probiotiques peut changer la composition et l'activité métabolique de la flore intestinale par la production d'acides gras à chaînes courtes et de gaz. Plus encore, ils affectent la mobilité intestinale et exercent un effet anti-inflammatoire réduisant par cet effet les symptômes de ce syndrome (Jonkers et Stockbrügger, 2007). Des études menées à l'aide de *Lactobacillus plantarum* en addition avec *Lb. rhamnosus*GG et *Lb. reuteri* à montrer des résultats prometteurs concernant les symptômes de cette irritabilité (Kajander *et al.*, 2007).

II-3-2-6- Effet anticancérigène

En industrie laitière. Ceci représente un autre effet bénéfique en ce qui concerne les L'activité anticancérigène ou antimutagène est attribuée à plusieurs souches utilisées lactobacilles probiotiques. Plusieurs études sur des sujets humains ont démontrés des effets non négligeables de lactobacilles sur le contrôle du cancer du côlon (Gilliland, 2001). *Lb. acidophilus*, *Lb. Casei*Shirota et *Lb. rhamnosus*GG ont montrés dans différentes études des aptitudes à réduire l'activité enzymatique de la flore intestinale (Gill et Rowland, 2002). Ce phénomène peut l'activité enzymatique cancérogène et avoir un effet bienfaisant sur le colon, la vessie et le tractus urinaire, ces effets sont soit :

- La modification de la microécologie intestinale.
- Le changement de l'activité métabolique intestinale (diminution de la conversion de métabolites percancérigènes ou cancérogènes).
- La normalisation de la perméabilité (prévention ou diminution de l'absorption de toxines).
- L'augmentation de l'immunité intestinale (augmentation de la résistance vis-à-vis des produits chimiques, des inflammations et d'autres facteurs).
- La fortification de l'effet barrière intestinal.
- La supplémentation en acide butyrique et folique (Salminen *et al.*, 2003).

II-3-2-7- Effet sur la maladie de Crohn

La maladie de Crohn est une maladie intestinale chronique caractérisée par des périodes d'activation et d'inactivation indéterminées. Les causes les plus probantes de cette maladie sont dues à des bactéries infectantes de la lamina-propria, une baisse de la tolérance orale et à une faiblesse de la fonction

Chapitre II Propriétés technologiques et probiotiques des lactobacilles

barrière de la muqueuse (Jonkers et Stockbrügger, 2007). Des études cliniques préliminaires ont prouvé que l'administration de probiotiques réduirait les effets de cette maladie (Salminen *et al.*, 2003). Une étude portant, sur l'administration de *Lb. rhamnosus*GG à des sujets présentant une maladie de Crohn et traité a montré une augmentation des cellules sécrétant des IgA dirigées contre des antigènes alimentaires (β - lactoglobuline et caséine) suggérant un effet protecteur (Malin *et al.*, 1996)

Tableau 3 : Les propriétés générales d'un probiotique (Rousseau,2004)

Sécurité	Technologie	Fonctionnalités	Effets santé
Origine humaine non pathogène Exempte de facteurs de virulence	Génétiquement stable Viable au cours de la fabrication et le stockage Résistant aux bactériophages Propriétés sensorielles Apte à la propagation à grande échelle	Tolérance au suc gastrique et à labile Viable et métaboliquement active jusqu'à sa cible Adhérent à la muqueuse intestinale	Cliniquement prouvé

II-3-3- Critères de sélection des probiotiques

Pour qu'un lactobacille (ou tout autre microorganisme) puisse être considéré comme probiotique, et afin qu'il puisse intervenir dans le bon fonctionnement du tractus digestif de l'hôte, il faut qu'il atteigne la muqueuse intestinale à l'état vif (Holzapfel, 2001). Dès l'administration, le microorganisme doit franchir des barrières et des entraves constitutives du mécanisme de digestion ou de défense de l'hôte. Plusieurs critères de sélections sont requis pour l'authentification d'un probiotique, ces critères englobent : l'origine humaine et la non- pathogénèse ainsi que les aspects technologiques et fonctionnels (Annuk *et al.*, 2002). Les points critiques de sélection d'un microorganisme probiotiques se résument donc comme suit :

II-3-3-1- Critères de salubrité

Les espèces du genre *Lactobacillus* appartiennent au groupe de microorganismes reconnus pour être sains (generally recognized as safe ou GRAS) de par leur origine mais aussi par leur application dans des produits agroalimentaires (Tuohy *et al.*, 2006 et Vesterlund *et al.*, 2007). Ils procurent plusieurs bienfaits à l'organisme de l'hôte qui les hébergent et sont généralement considérés comme des bactéries non-pathogènes ou seulement comme pathogènes opportunistes surtout dans leur aptitude à provoquer des caries dentaires (Slover et Danziger 2008). Seulement quelques cas ont été répertoriés concernant la pathogénèse des lactobacilles (Cannon *et al.*, 2005).

II-3-3-2- Habilité à survivre dans les produits agroalimentaires et durant le stockage

Du point de vue technologique, les souches probiotiques doivent posséder plusieurs qualités telles

que la facilité à être cultivée à de hautes densités cellulaires tout en conservant leurs propriétés biologiques et leur stabilité au cours des procédés de production et d'entreposage (Champagne *et al.*, 2005). Les souches probiotiques de *Lactobacillus* sont véhiculées via des produits alimentaires, le plus commun étant le yaourt (Tamime *et al.*, 2005). Plusieurs problèmes se posent dans ces cas, incluent l'oxygène, les degrés d'acidité, la présence d'autres microorganismes et la température (Temmerman, 2003 et Damin *et al.*, 2007). Les concentrations élevées d'oxygène dissout dans le processus de fabrication des yaourts est un agent limitant dans la viabilité des lactobacilles probiotiques qui sont connus pour être des micro-aérophiles, ceci dit, l'utilisation de *Streptococcus thermophilus* dans ce même produit élimine une bonne partie de cet oxygène et ainsi protège ces bactéries (Lourens-Hattingh et Viljoen 2001)

II-3-3-3- Résistance à l'acidité

Le comportement des bactéries dépend de la souche, par conséquent, il est nécessaire de connaître le genre et l'espèce des souches utilisées. La survie des bactéries dans le suc gastrique dépend de leur capacité à tolérer les pH bas. Le temps de passage peut-être d'une à trois heures selon l'individu et le régime. Par conséquent, des auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2,5 dans un milieu de cultures pendant quatre heures (Ammor et Mayo.2007).

II-3-3-4- Résistance aux sels biliaires

Dans l'intestin grêle, la tolérance aux (sels biliaires ou SB) est un facteur important qui contribue à la survie des probiotiques. Les bactéries qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent alors faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion d'un repas gras. Les bactéries peuvent réduire l'effet émulsifiant des sels biliaires en les hydrolysant avec des hydrolases et de fait diminuent leur solubilité (Gu *et al.*, 2008).

II-3-3-5- Adhésion aux cellules intestinales

La capacité d'adhésion à la couche est un critère incontournable de sélection recommandé pour le choix des probiotiques. L'adhérence constitue le premier mécanisme de défense contre l'invasion des bactéries pathogènes. Elle est basée sur la réalisation d'un ensemble de tests *in vitro* puis *in vivo* en utilisant des cellules d'origine humaine et/ou animale (Palomares *et al.*, 2007 ; Reyes-Gavilan *et al.*, 2011). En plus du pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin, les probiotiques peuvent se fixer au mucus qui recouvre les entérocytes ou aux divers microorganismes que l'on retrouve dans le tractus gastro-intestinal (Lamoureux, 2000).

II-3-3-6- Production de substances antimicrobiennes

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide/ bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments (Labioui *et al.*, 2005).

II-3-3-7- Résistance aux antibiotiques

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Les travaux de Temmerman *et al.* (2003) ont montré que 68.4% des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Les autorités européennes ont récemment conclu que quelques bactéries utilisées pour la production d'aliment pourraient poser un risque à la santé humaine et animale en raison d'héberger des souches avec les gènes de résistance transmissibles. Par conséquent, avant de lancer une culture probiotique, il est important de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne comportent pas de gènes transmissibles de résistance aux antibiotiques (Ammor *et al.*, 2007).

Tableau 4 : Critères de sélections utilisés aux laboratoires pour le screening des probiotiques (Nousiainen *et al.*, 2004)

Critères	But recherché
Résistance à l'acidité	Survie pendant le passage par l'estomac et le duodénum
Résistance aux sels biliaires	Survie pendant le passage par l'intestin grêle
Production d'acide (à partir du glucose et de lactose)	Production «de barrière acide » efficace Dans l'intestin
Adhésion au mucus et/ou aux cellules épithéliales humaines	Colonisation efficace, réduction des Sites d'adhésion des pathogènes à la surface
Production de substances antimicrobiennes	Inhibition du développement des germes Pathogènes
Résistance à la chaleur	Survie pendant le processus de transformation



Deuxième Partie
Etude expérimentale



Chapitre I

Matériel et méthodes

I-1-Lieu et durée du travail

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau du laboratoire de Recherche des Sciences et Technique de Production Animale (LSTPA), Université Abdellhamid Ibn Badis de Mostaganem.

I-2- Objectifs de l'étude

Cette étude a pour objectifs d'évaluer les aptitudes technologiques et les effets probiotiques de certaines souches de *Lactobacillus plantarum*, Par ailleurs nous avons également fait un essai de fabrication de fabrication de fromage frais à partir d'une de ces souches.

1-3-Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Spectrophotomètre (7305 Jenway)
- Vortex (Biocote)
- Microscope optique (DM Series)
- pH-mètre
- Plaque chauffante (VELP)
- Autoclave (Witeg Wisd)
- Bain-marie (Timo)
- Balance de précision (Isolab)
- Anse de Platine
- Boite de petri
- Tube à essai
- Flacons en verre

I-4- Produits chimiques et réactifs

- **Les colorants** : Violet de gentiane, fuschine
- **Les réactifs** : réactif de Vogues Proskaeur (VP1 et VP2)
- **Les acides et bases** : Lugol, La soude dornic (NAOH) N/9, acide chloridrique 1N, Ethanol
- **Autres** : Les sels biliaires ont été utilisés pour étudier le pouvoir des bactéries lactiques à résister à cet inhibiteur dans un milieu liquide., Phénophtaléine, Eau distillée, saccharose

I-5-Matériel Biologique

I-5-1- La présure

La présure microbienne utilisés dans la fabrication du fromage, nous ont été fournis également par le laboratoire LSTPA.

I-5-2- Souches de *Lactobacillus plantarum*

Six souches (N=06) appartenant à l'espèce *Lactobacillus plantarum* (LB43, LB49, LB50, LB76, LB89), isolées à partir de miels crus ont été choisies pour cette étude (Tableau 05). Ces souches proviennent de la collection du laboratoire des Sciences et technique de transformation des productions laitières (LSTPA).

Tableau 5 : Listes des souches de lactobacilles utilisées dans cette étude

Souches	Origine	Type	Provenance
LB 43	Miel	<i>Lactobacillus plantarum</i>	LSTPA
LB 49	Miel	<i>Lactobacillus plantarum</i>	LSTPA
LB 50	Miel	<i>Lactobacillus plantarum</i>	LSTPA
LB 76	Miel	<i>Lactobacillus plantarum</i>	LSTPA
LB 89	Miel	<i>Lactobacillus plantarum</i>	LSTPA

I-5-3- Les souches indicatrices

Il s'agit de deux souches indicatrices *Escherichia coli* et *Staphylococcus thermophilus*. Ces isolats appartiennent également au laboratoire LSTPA et ont été isolé à partir de la mamelle de vache.

I-5-4- Les Milieux de culture

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

- **Les géloses** : MRS (Man Rogosa et Scharpe ,1960) pour la culture des lactobacilles, Les milieux MSE (Mayeux *et al.*,1962, Zarour *et al.*,2017), Gélose au triglycérides (Guiraud, 2003) et PCA lait à 2% et à 1% pour l'étude des aptitudes technologiques, Mueller-Hinton (M.H), soit sous forme solide ou bien semi-solide par addition de 1,2% d'agar pour les tests d'inhibition.
- **Les bouillons** : Clark et Lubs pour l'évaluation des aptitudes technologiques, B.N (bouillon nutritif) pour la revivification et la purification des souches indicatrices.

I- 6- Méthodes

I-6-1- Revivification des souches lactiques

Les six souches lactiques ayant subi une longue conservation de plus de dix-huit mois ont été revivifiées par ensemencement de 1000 µl de chaque souche conservée dans un tube contenant 5 ml de bouillon MRS suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les résultats de revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

I-6-2- Purification des souches

Les souches lactiques revivifiées ont été purifiées par ensemencement en stries sur gélose MRS et incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'un résultat uniforme de point de vue morphologie des bactéries lactiques.

I-6-3- Confirmation de l'appartenance au groupe lactique

I-6-3-1- Caractéristique macroscopique

La détermination des caractères macroscopiques, se fait à l'œil nue. Les souches ont été cultivées sur le milieu gélosé MRS. Cette analyse permet de renseigner sur la couleur, la forme, la taille, l'aspect, la consistance, l'opacité et l'odeur des souches testées.

I-6-3-2- Caractérisation 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).

I-6-3-3- Test de production de catalase

La majorité des bactéries lactiques sont des anaérobies facultatifs et n'ont pas besoin de synthétiser la peroxydase (Larpen, 1997). Pour confirmer que les lactobacilles utilisés sont catalase négative (-), une colonie de chaque culture bactérienne à tester est mise en émulsion, dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester et est le signe de la présence d'une catalase (Larpen *et al.*,1990).

I-6-4- Etude des aptitudes technologiques des souches de *Lb. plantarum*

I-6-4-1- Pouvoir acidifiant

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH de différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser l'acidité titrable par la soude (NaOH, N/9) en présence d'un indicateur coloré de pH la phénolphtaléine (Larpent, 1997). L'acidité titrable mesurée est assimilée à des degrés Dornic (°Dornic) où 1°Dornic équivaut à 0.1g d'acide lactique/l de lait. Pour réaliser ce test, 100µL de culture jeune de chaque souche lactique a été ensemencée dans un tube contenant 10ml de lait écrémé stérile reconstitué à 10%. Après agitation, les mesures sont prises à intervalles de temps 0h, 2h, 4h, 6h et 24h d'incubation à 37°C, puis titrer par la soude Dornic en présence de quelques 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 :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

Où :

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

I-6-4-2- Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique de chacune des souches lactiques, la gélose PCA additionnée de lait écrémé 0% reconstitué à 10% a été préparée. Des puits sont ensuite creusés sur la gélose préalablement ensemencée par la souche indicatrice. Chaque puit reçoit un volume de 50 µl d'une culture jeune de lactobacille. Après une incubation à 37°C pendant 24 heures à 48 heures, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des disques, Le diamètre de la zone de lyse (zone claire) est mesuré en mm (Veuillemard, 1986).

I-6-4-3- Activité lipolytique

Les isolats qui dégradent le triglycéride sont entourés d'un halo transparent dû au dépôt des cristaux du sel de calcium formés par libération d'acides gras par les enzymes, ou un précipité autour de la colonie dû à la dégradation complète des acides gras (Guessas *et al.*, 2012). La méthode décrite par Veuillemard (1986) a été utilisée pour l'évaluation de l'activité lipolytique. Dans une boîte de

Pétri contenant de la gélose au triglycéride solide et ensemencée par les souches indicatrices, des puits ont été creusés avec un emporte pièces et sellés par 10 µl de gélose au triglycéride. Les puits recevront 50 µl de culture jeune de souche lactique. Après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entourée d'un dépôt autour des puits (Guiraud, 2003). Un autre essai avec la même méthode a été utilisée, excepté qu'à la place des puits, des disques imbibés de cultures bactériennes sont déposés à la surface des boîtes de petri contenant la gélose au triglycéride préalablement ensemencée par les souches indicatrices, La lipolyse est révélée par des zones claires autour des disques. Le diamètre de cette zone est mesuré en mm.

I-6-4-4 pouvoir texturant (Production d'exopolysaccharides ou EPS)

La production d'EPS à partir du saccharose est mise en évidence sur milieu solide MSE (Mayeux *et al.*, 1962) hyper-saccharosé (additionné de 10 % de saccharose). Les souches de lactobacilles ont été ensemencées en stries sur gélose hyper-saccharosée. Après incubation à 37 °C pendant 24 à 48h, la production des exopolysaccharides est détectée par l'apparition des colonies larges, visqueuses et gluantes (Leveau *et al.* 1991, Mayeux *et al.*, 1962, Zarour *et al.*, 2017, Benhouana *et al.*, 2019).

I-6-4-5- Pouvoir aromatisant (Production d'acétoïne)

La capacité des souches à produire des composés aromatisants au cours de leur croissance a été mise en évidence dans le milieu de Clark et Lubs. Chaque tube contenant ce milieu a été ensemencé par une des souches de lactobacille. Après incubation à 37°C pendant 24h à 48h environ 4 gouttes de chacun des réactifs réactif α- naphthol à 6% dans l'alcool absolu (VP1) et d'une solution de soude (NaOH) à 16% dans l'eau distillée (VP2) ont été ajoutés suivis d'une agitation rigoureuse. Après 10 minutes, un résultat positif se traduit par l'apparition d'un anneau rouge en surface (Harrigan et McCance, 1976 ; Zourari *et al.*, 1991). A titre de comparaison, nous avons utilisé une autre méthode dans laquelle nous avons suivi le même protocole excepté que nous avons utilisé le lait écrémé comme milieu de culture à la place du milieu de Clark et Lubs. Le résultat est observé après 24h.

I-6-5- Etude du potentiel probiotique

I-6-5-1- Résistance à l'acidité gastrique

L'aptitude des souches de *Lactobacillus plantarum* à résister à l'acidité gastrique, a été déterminée selon la technique décrite par Hassanzadazar *et al.* (2012). Un volume de 1 ml de culture jeunes et fraîche de lactobacille est mis en suspension dans deux tubes différents de 10 ml de bouillon MRS

ajustés respectivement à deux pH différents pH= 5,5 (témoin) et pH=2. Après 3h d'incubation à 37°C. La croissance est déterminée par la mesure de la densité optique à 660nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le taux de survie est calculé en comparant la croissance d'une culture bactérienne qui a été exposé aux conditions acides du milieu par rapport à la croissance de la même souche qui été mise en culture sur milieu MRS à pH 5,5. Deux répétitions sont réalisées pour chaque souche

I-4-5-2- Résistance aux sels biliaries

Pour la détermination de l'aptitude des souches de *Lactobacillus plantarum* à résister à la bile, la méthode décrite par [Hassanzadazar et al. \(2012\)](#) a été appliquée. Un volume de 10mL de milieu MRS à pH 5,5 additionné de 0,3% de sels biliaries est inoculé par 1mL de culture jeune de lactobacille. Après 3h d'incubation à 37°C la densité optique est mesuré à 660nm. Pour chaque souche un tube témoin dans lequel 10ml de bouillon MDR à pH 5,5 et sans sels biliaire est inoculé par 1mL de la culture lactique est préparé. Deux répétitions sont réalisées pour chaque souche.

I-4-5-3- Pouvoir antimicrobien vis-à-vis de souches pathogènes

La méthode de double couche ([Fleming et al., 1975](#)) a été utilisé pour étudier l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis de deux souches indicatrices *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Ce test consiste à ensemencer en touche un volume de 5 µl de chaque culture fraîche, de 18h de bactéries lactiques testées, sur une gélose MRS. Les boîtes sont laissées à la température ambiante pour permettre aux spots de sécher, avant de les incuber à 37°C pendant 24 heures. En parallèle, une culture fraîche de bactérie pathogène à tester sont préparée dans 9 ml du bouillon nutritif et incubée à 37°C pendant 18 heures. Après incubation, 9 ml de Muller Hinton semi-solide (M.H) en surfusion sont inoculés par la souche cible. Le mélange est Ensuite coulé sur la couche de MRS, en contact direct avec les spots. Les boîtes sont incubées à 37°C/24 heures. L'activité antibactérienne s'est révélée par l'apparition de zones claires autour des spots.

I-4-6- Fabrication de fromage

Pour fabriquer du fromage frais nous avons tout d'abord commencer par chauffer 1L de lait écrémé à 0% reconstitué à 10% à 85°C. puis nous l'avons divisé équitablement dans des flacons de 250ml. Par la suite nous avons mis dans chaque flacon un volume de 5ml de levain. Dans le premier flacon nous avons mis un levain composé uniquement de souche de lactobacille, dans le deuxième flacon nous avons mis la souche additionnée de 1ml de l'enzyme présure et dans le troisième flacon la souche lactique additionné de 2ml de l'enzyme présure. Le dernier flacon composé uniquement de lait écrémé

à 0% a été utilisé comme témoin. Enfin, après avoir incubé le ferment à 37°C pendant 24h, nous avons séché et calculé le taux de matière sèche du caillé lactique obtenu.



Chapitre II

Résultats et discussion

II-1- Examen macroscopique

Les souches ont été purifiées par repiquage successif sur le milieu MRS jusqu'à ce que les colonies apparaissent homogènes (Figure 4).

Les caractères culturaux des lactobacilles se présentent comme suit :

- **Sur MRS bouillant** : les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe de bactéries lactiques (Figure 3).
- **Sur MRS gélosé** : les colonies sont circulaires, rondes, lisses, de couleur blanchâtre ayant un contour régulier et avec un diamètre variant entre 2 et 5 mm (Figure 4).

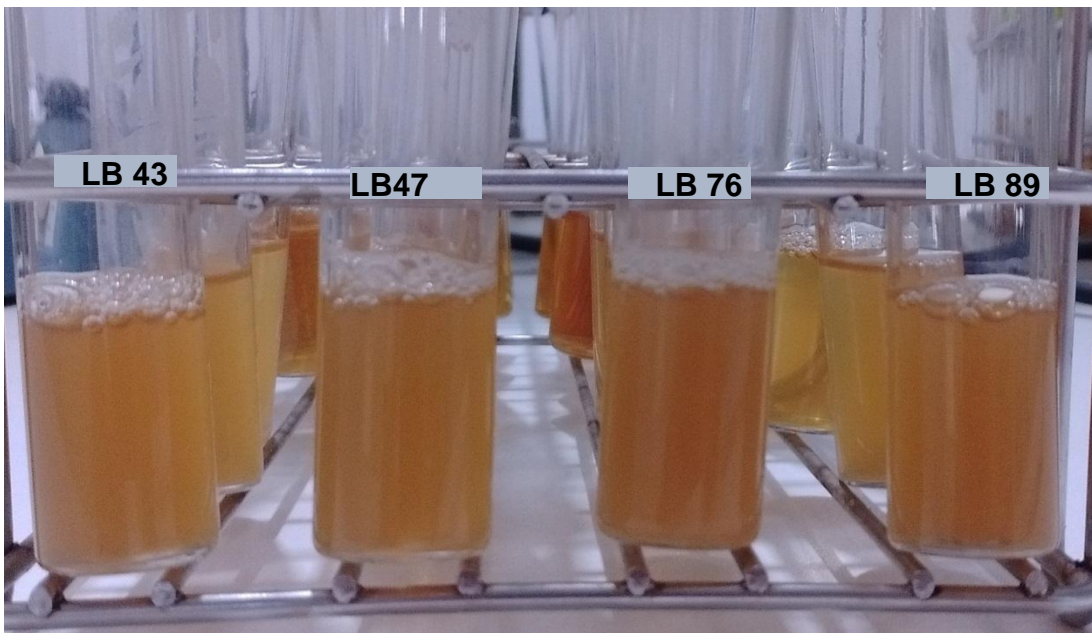


Figure 3 : Observation macroscopique des *Lactobacillus plantarum* dans le milieu MRS liquide



Figure 4 : Observation macroscopique des colonies de *Lactobacillus plantarum* (LB76) sur milieu MRS

II-2- Examen microscopique

L'observation microscopique des souches montre de cellules de couleur violette (Gram positif) de forme bacillaires, courtes, isolées, disposé en paire ou en petites chainettes (**Figure 5**).

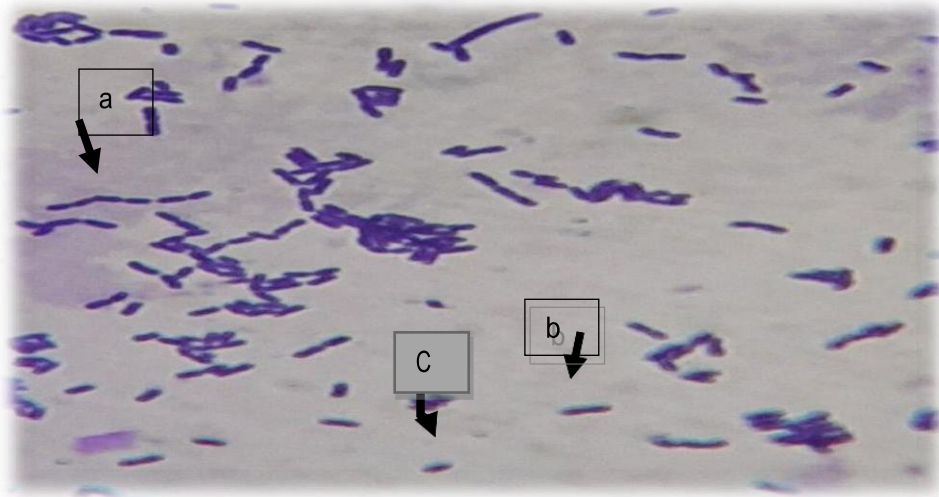


Figure 5 : Observation microscopique de *Lactobacillus plantarum* après coloration de Gram (x1000). a : Bacille disposées en courtes chaines , b : Bacille disposés en paires, c : bacille isolée

II-3- Test de production de catalase

Ce test a révélé que toutes les souches étudiées sont négatives pour la réaction de la catalase.

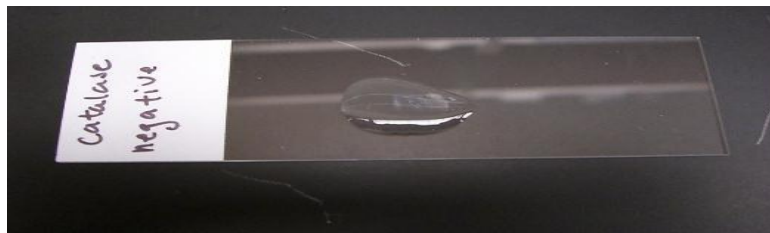


Figure 6 : Catalase négative de bactéries

Les résultats obtenus de l'aspect macroscopique et microscopique, la coloration de Gram ainsi que le test de catalase montre que toutes les souches présente une absence de activité catalasique et un type Gram positif dont la forme est bacillaire (**Tableau 6**), ce qui nous permet de confirmer l'appartenance de ses souche au genre *Lactobacillus* ([Hensyl, 1994](#)).

Tableau 6 : Résultats de la pré-identification des isolats

Code	Test de la catalase	Coloration de Gram
LB 43	-	+
LB 47	-	+
LB 49	-	+
LB 50	-	+
LB 76	-	+
LB 89	-	+

II-4- Etude des aptitudes technologiques des souches de *Lb. plantarum*

II-4-1- Cinétique d'acidification

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. C'est également l'une des critères technologiques les plus recherchés en technologie laitière (Hassaine, 2013). En effet, la production d'acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme agent coagulant et antimicrobien.

Les résultats de l'évolution de l'acidité Dornic et les variations de pH au cours de la croissance sur le lait écrémé pour les cinq souches testées sont présentés dans le tableau 7, les figures 7, 8,9,10.

D'après ces résultats obtenus, nous remarquons que la totalité des bactéries lactiques identifiées présentent une production progressive en acide lactique et que cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu. Après deux heures d'incubation, les valeurs de pH varient entre pH 6,80 et pH 6,86, en parallèle la quantité de l'acide Dornic produite se situe entre 20 et 24 °D. Au bout de 24 h d'incubation ces valeurs de pH diminuent et se trouvent situées entre pH 4,94 et pH 5,59, de même la quantité de l'acide lactique produite se situe entre 50 et 76 °D. On constate ainsi que la plupart des souches sont lentes à s'acidifier. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Hassaine (2013) qui a révélé que les lactobacilles sont faiblement acidifiants. Cependant la recherche menée par Maghnia (2011) a révélé que les bactéries du genre *Lactobacillus* présente une très importante acidification (acidité $\geq 79^\circ\text{D}$).

Tableau 7 : Suivi du pH et de l'acidité Dornic (°D) des souches de *Lactobacillus plantarum*

Code	0h		2h		4h		6h		8h		24h	
	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°
LB 43	6.90	20	6.80	22	6.80	22	6.70	27	6.60	30	5.57	50
LB49	6.90	20	6.84	23	6.80	24	6.80	24	6.70	26	5.58	50
LB50	6.96	19	6.84	22	6.80	24	6.80	24	6.70	26	5.50	54
LB76	6.95	20	6.86	22	6.80	25	6.80	25	5.70	28	5.59	56
LB89	6.92	22	6.86	24	6.86	24	6.80	25	6.74	29	4.94	76
Témoin	6.80	16	6.80	16	6.79	16	6.78	16	6.69	16	6.69	16

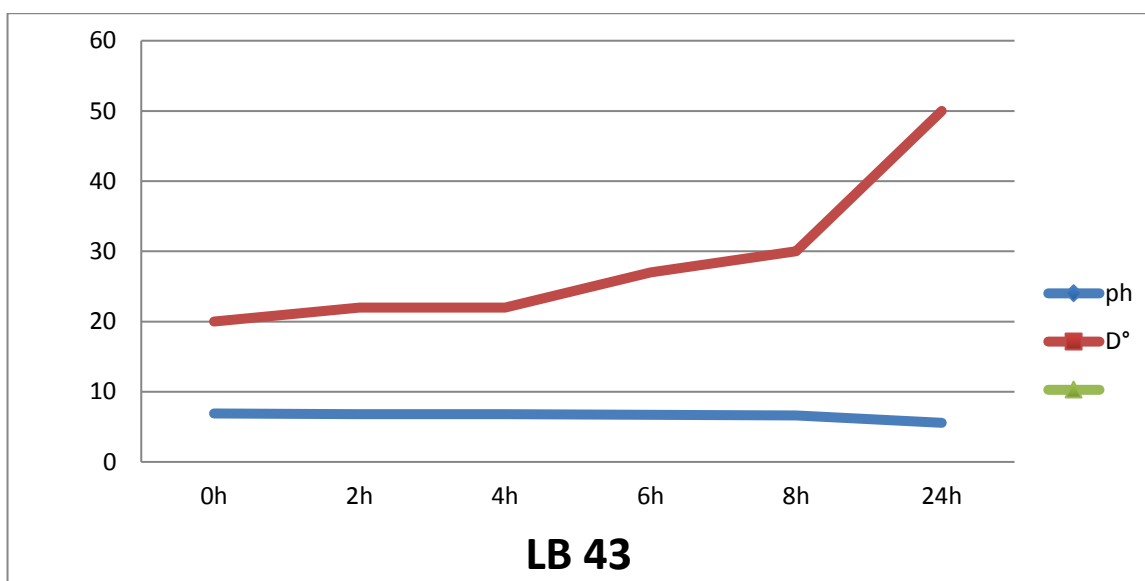


Figure 7 : courbe d'acidification de la souche LB 43

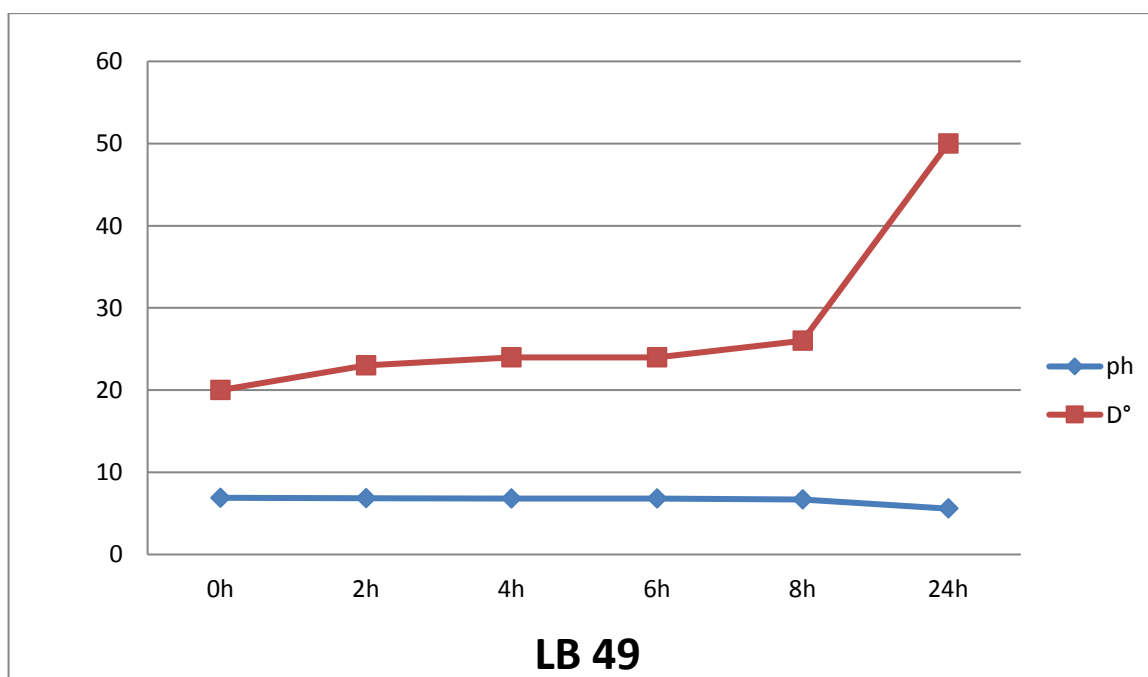


Figure 8 : courbe d'acidification de la souche LB 49

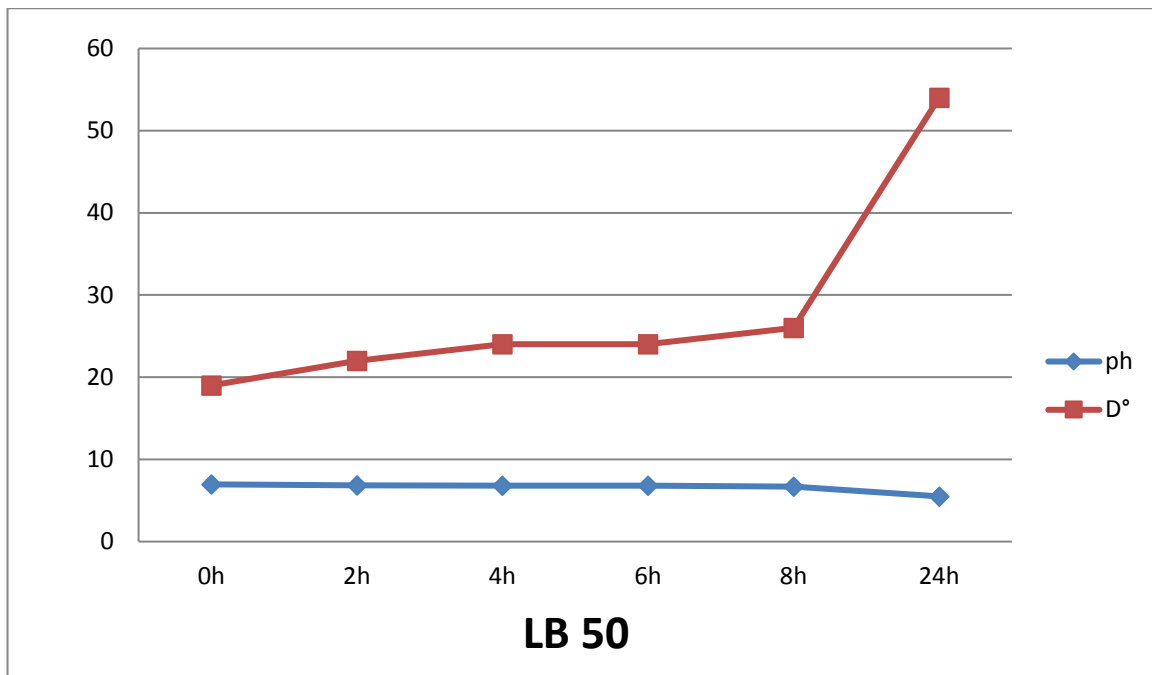


Figure 9 : courbe d'acidification de la souche LB 50

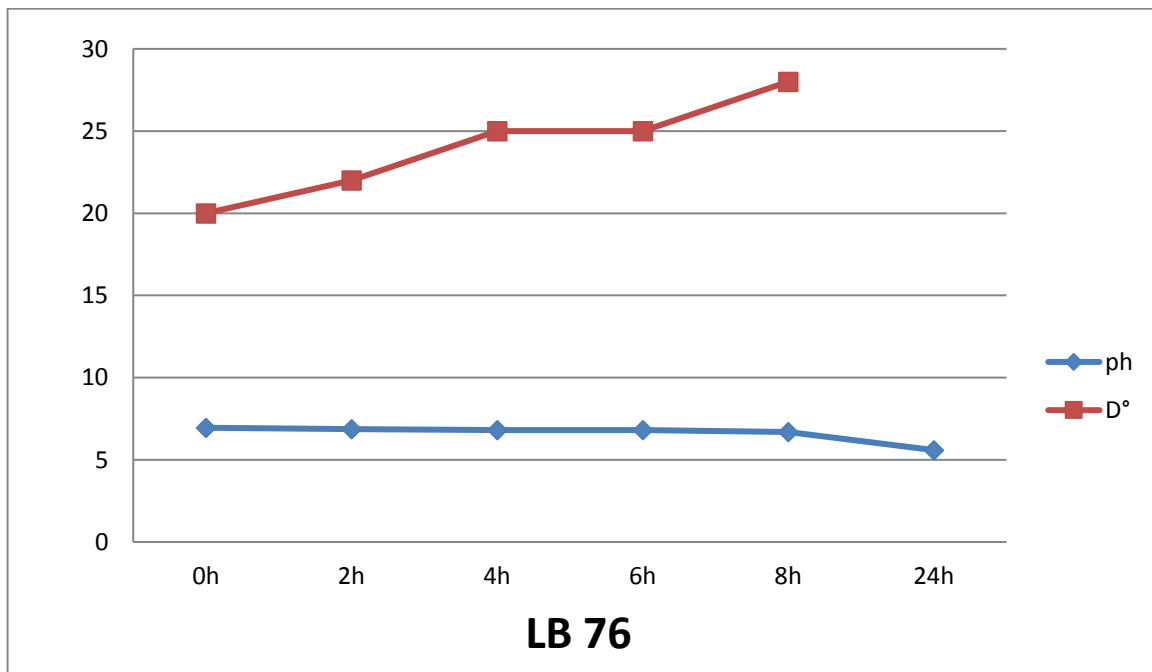


Figure 10 : courbe d'acidification de la souche LB 76

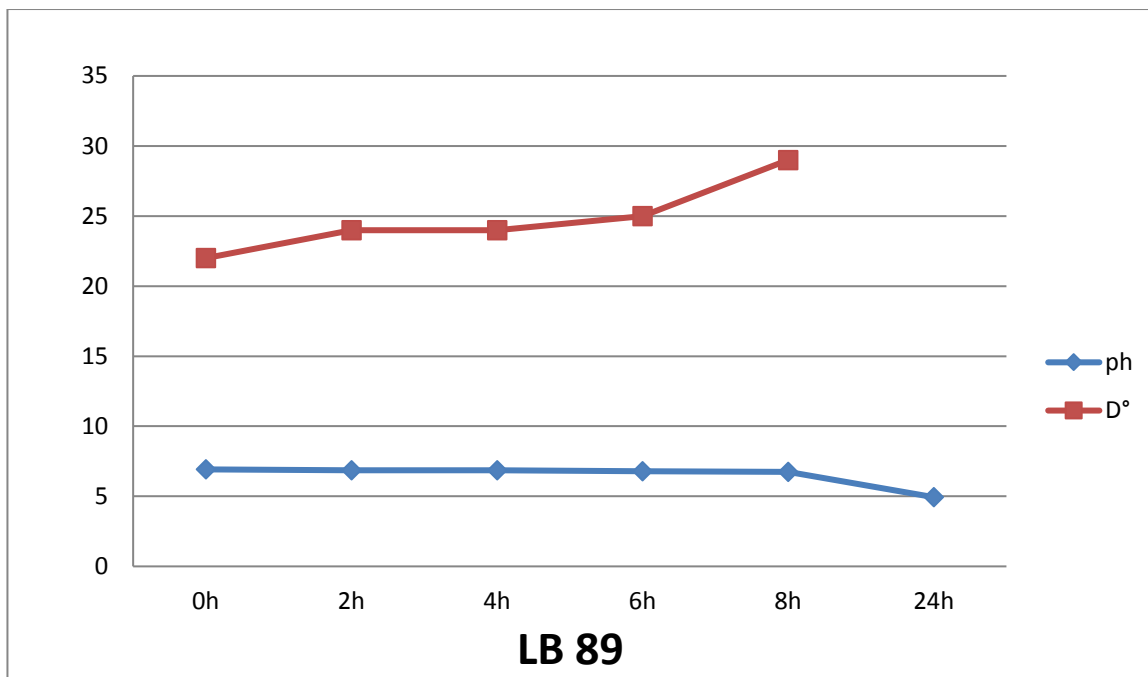


Figure 11 : courbe d'acidification de la souche LB 89

II-4-2- Pouvoir protéolytique

La protéolyse se traduit par l'apparition d'un halo clair dû à la dégradation de la caséine autour des souches ensemencées sur le milieu PCA additionnée du lait écrémé après 24h. Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont illustrés dans la figure 12. Il en ressort de ces résultats qu'aucune des souches étudiées ne présentent une activité protéolytique. Selon [Vuilleumard \(1986\)](#) une souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Dans notre cas il y a eu croissance des bactéries mais aucun halo clair n'est apparu autour des disques. L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle dans la fabrication fromagère ainsi que dans le développement des propriétés organoleptique ([Veuilleumard, 1986](#)).

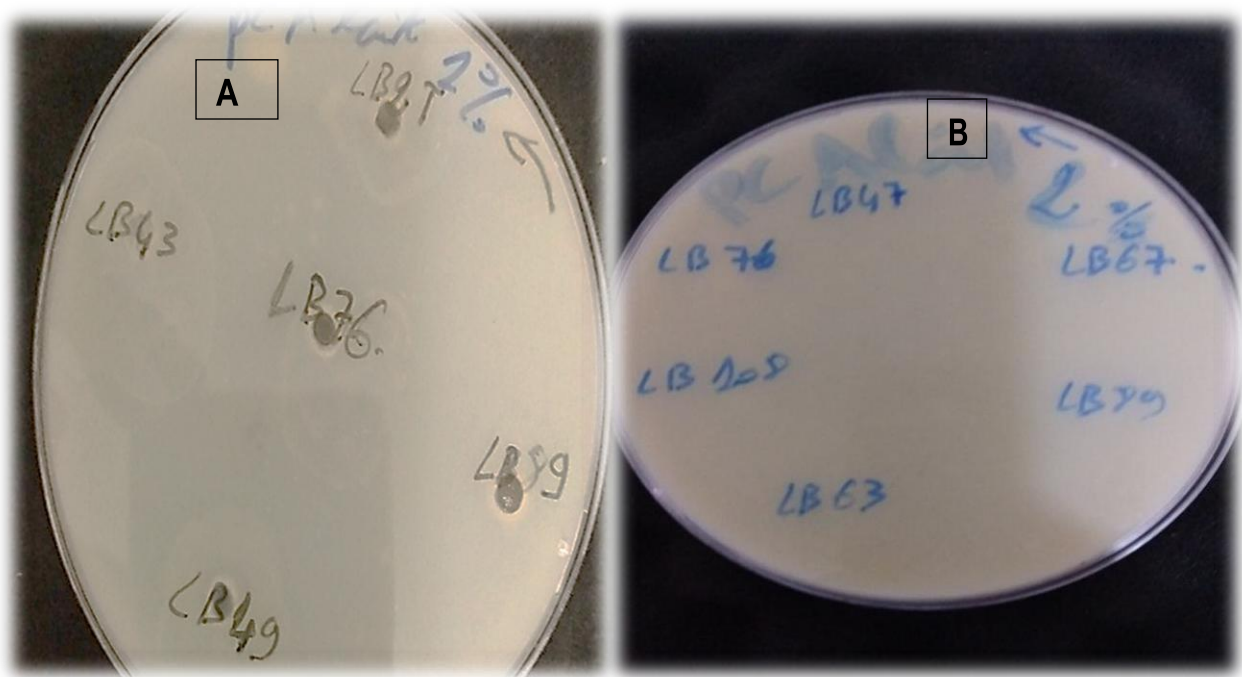
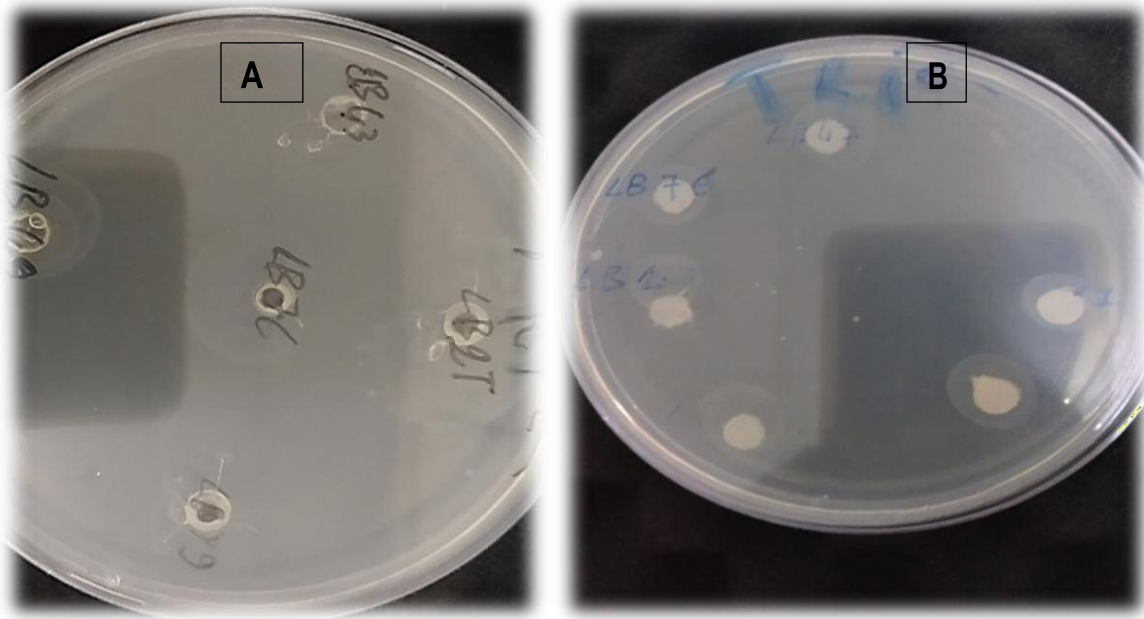


Figure 12 : Observation des résultats obtenus pour l'activité protéolytique des souches de *Lactobacillus plantarum*. A : PCA lait à 1%, B : PCA lait à 2%

II-4-3- Activité lipolytique

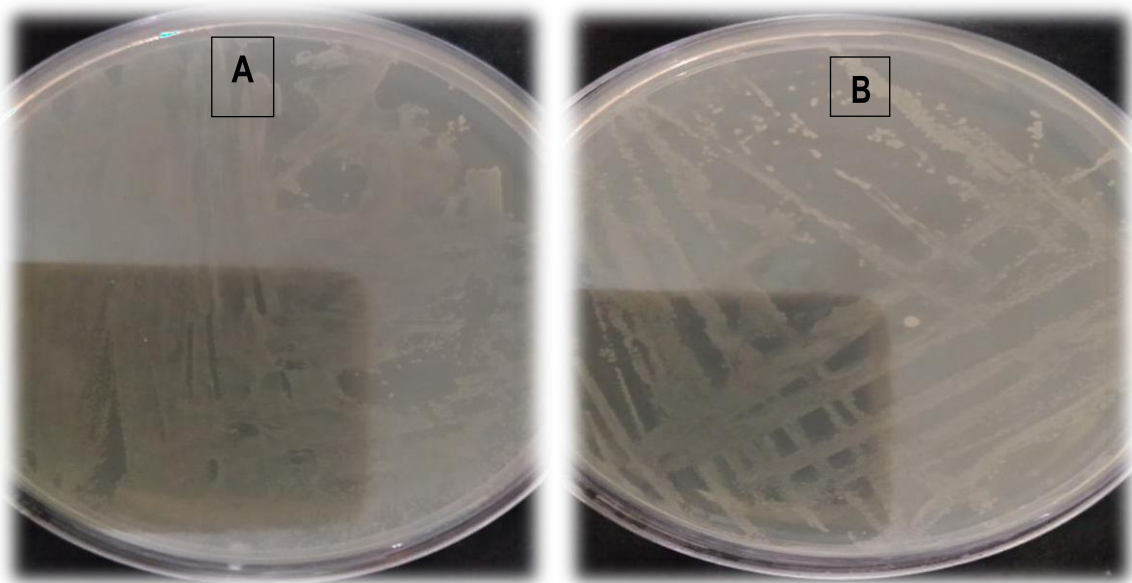
Les résultats de l'activité lipolytique sont illustrés dans **la figure 13**. Toutes les souches testées ne possèdent aucune activité lipolytique, il apparait à travers des publications scientifiques que les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques soient encore fragmentaires ([Liu et al., 2001](#)). D'après ([De Roissard et Luquet., 1994](#)), les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytiques par comparaison avec d'autres espèces bactériennes. D'autre travaux de [Fernandez et al. \(2000\)](#) indiquent que l'activité estérasique n'est pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques lorsqu'elles sont dans un milieu synthétique ou bien dans le lait.



Figures 13 : Observation des résultats de la lipolyse des souches de *Lb. plantarum*
A : méthode des puits, B / méthode des disques

II-4-4- Pouvoir texturant

La capacité de production des EPS par nos souches a été testée sur milieu MSE additionné de 10% de saccharose. Les résultats sont illustrés dans la **figure 14**. La production des exopolysaccharides est traduite par l'apparition de colonies larges et gluantes. Toutes les souches étudiées (LB43, LB49, LB50, LB76, LB89) ont pu se développer dans le milieu MSE additionné de 10% de saccharose en formant des colonies à aspect plus ou moins gluant témoignant une production d'un agent épaississant, les exopolysaccharides. Ces bio-polymères jouent un rôle important dans l'industrie laitière, en particulier dans la fabrication des produits laitiers fermentés tels que les yaourts et les fromages en permettant d'améliorer leur apparence, leur stabilité ainsi que leurs propriétés rhéologiques (Zarour, 2018). Nos résultats se concorde avec les nombreux travaux (Cerning *et al.*, 1990 ; De vuyt *et al.*, 2001 ; Bekar et Dalaa, 2019) qui ont démontré que les lactobacilles sont capables de produire des EPS. D'après Benhouna *et al.* (2019) les EPS peuvent être utilisés en remplacement de certains additifs alimentaires et stabilisants tels que les protéines de lait, l'amidon, les pectines et autres hydro-colloïdes.



Figures 14 : Observation des résultats de la production des EPS des *Lactobacillus plantarum*.
A : LB 49 ; B : LB 89

II-4-5- Pouvoir aromatisant

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 15. Toutes les souches de *Lactobacillus plantarum* testées par la réaction de Vogues Proskauer arrivent à produire des arômes comme l'acétoïne, détecté par l'apparition une coloration rose-rouge intense du milieu Clark et Lubs ainsi que du milieu lait écrémé, excepté pour la souche LB89 ou on constate une absence de la couleur rose-rouge dans les deux milieux ce qui indique qu'elles sont incapables de produire de l'acétoïne. Ces bactéries ont donc un pouvoir aromatisant qui pourra contribuer aux caractéristiques organoleptiques des produits fermentés. Nos résultats se rapprochent de ceux de [Montville et al., \(1987\)](#), qui ont montré la production d'acétoïne chez par *Lb. plantarum*.

La production de composés aromatique est une fonctionnalité technologique importante dans la fabrication des produits laitiers fermentés.

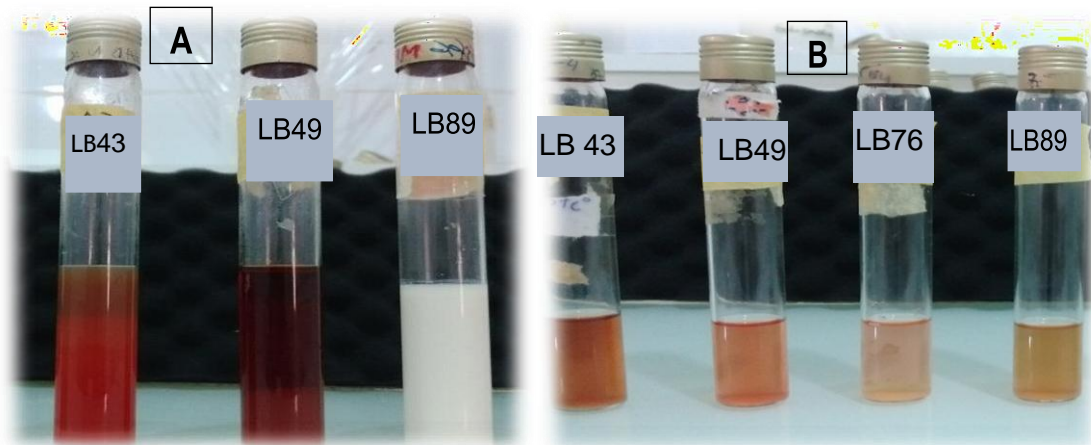
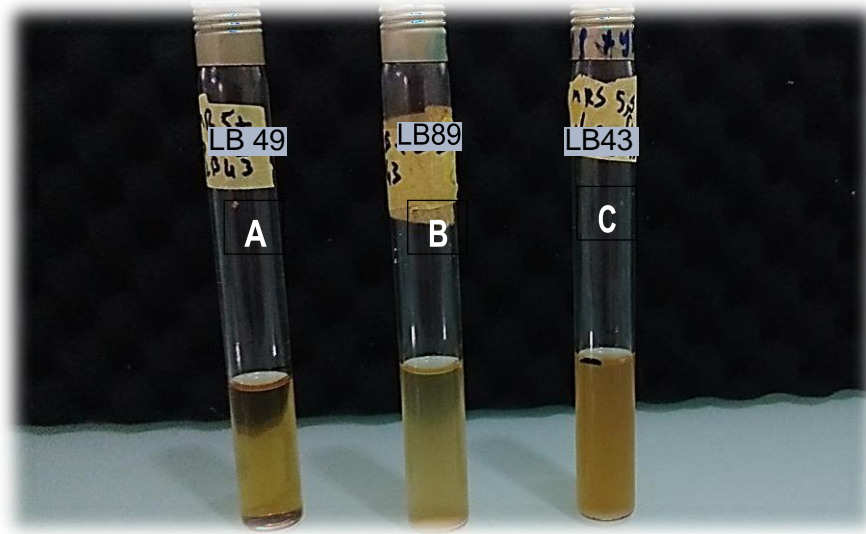


Figure 15 : Observation des résultats de la Production d'acétoïne des souche *Lactobacillus plantarum*. A : milieu lait écrémé ; B : milieu de Clark et Lubs.

II-5- Etude du potentiel probiotique

II-5-1- Résistance à l'acidité gastrique

L'étude de l'exposition prolongée de six souches de *Lactobacillus plantarum* aux conditions acides similaires à celles de l'estomac a été réalisée par incubation dans le milieu MRS à pH 2 pendant 3h. La souche témoin *Lactobacillus plantarum* a été mise en culture en même temps sur milieu MRS à pH 5,5 sans sels biliaires et le résultat obtenu est estimé avec un taux de survie de 100%, avec lequel les autres taux de survies ont été comparés. Les résultats obtenus de ce test sont illustrés dans les figures 16, 17. Ainsi, l'ensemble des souches ont donné une bonne croissance sur le milieu témoin pH 5.5 qui se traduit par une forte turbidité du milieu, avec en moyenne une densité optique maximale de $1,633 \pm 0,02$ enregistré chez LB 43. D'une manière générale, la résistance aux conditions acides diminue avec la diminution du pH du milieu jusqu'à atteindre un minimum de $1.39 \pm 2.3\%$ de taux de viabilité enregistré par la souche LB 76 à pH 2. On constate cependant, que malgré qu'il y ait eu une perte de la croissance de l'ensemble des bactéries lactiques à pH acide, la souche LB 49 a montré une meilleure résistance aux bas pH à savoir pH 2 avec un nombre de cellules viables qui est supérieur à 40%. Cette souche peut donc résister ultérieurement aux conditions d'acidité de l'estomac. Une bonne résistance à la barrière gastrique est un critère important pour la sélection des micro-organismes probiotiques (Charteris et al., 1998 ; Amar, 2015).



Figures 16 : Observation des résultats de croissance des souches *lb. plantarum* dans le milieu MRS.

A : Milieu MRS pH 2 ; B : MRS pH 5.5 additionnée de 0.3% sels biliaires ; C : milieu MRS pH 5.5

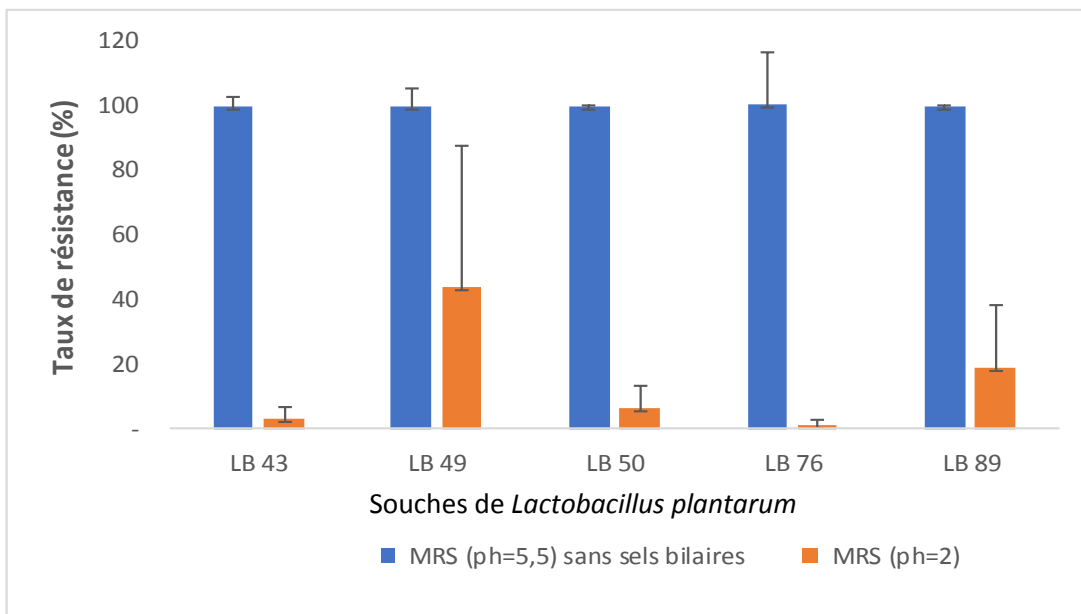


Figure 17 : Résultats de la résistance des souches de *Lb. plantarum* aux milieux acides.

II-5-2- Résistance aux sels biliaires

Les sels biliaires sont l'une des barrières à franchir par les bactéries probiotiques pour gagner leur site, de ce fait la tolérance des souches a été évaluée. Les résultats de ce test sont illustrés par les figures 16 et 18. Il apparaît que les souches pures ont présenté une sensibilité variable vis-à-vis des sels

biliaires après 3h d'exposition avec un maximum de $95,67\% \pm 6,12$ et un minimum de $2,66\%$ de taux de survie. La meilleure tolérance était enregistrée pour la souche LB 89. Les souches LB 43 et LB50 reflètent également une bonne résistance aux sels biliaires avec respectivement des taux de survies de $36,41 \pm 2,04$ et $94,39\% \pm 0,52$.

Nos souches de lactobacilles testées sont considérées comme ayant une bonne tolérance aux conditions gastro-intestinales simulées. Des résultats similaires ont été trouvés par Zago *et al.* (2011) qui ont révélé une moyenne de survie de 40% chez des lactobacilles isolés à partir de lait et du fromage. Des résultats trouvés par Burns *et al.* (2008) ont montré que la plupart des souches de sont sensibles aux sels biliaires. On constate par ailleurs que les souches sont plus tolérantes aux sels biliaires qu'à l'acidité. Ces résultats de tolérance aux sels biliaires semblent être en concordance avec ceux de Amar. (2015) a étudié les potentialités probiotiques de 15 souches de *Lactobacillus* isolés à partir de matières fécales, les bactéries testées étaient nettement plus résistantes aux sels biliaires à une teneur physiologique de 0,3% par rapport au milieu acide où la plupart des souches ont été inhibées.

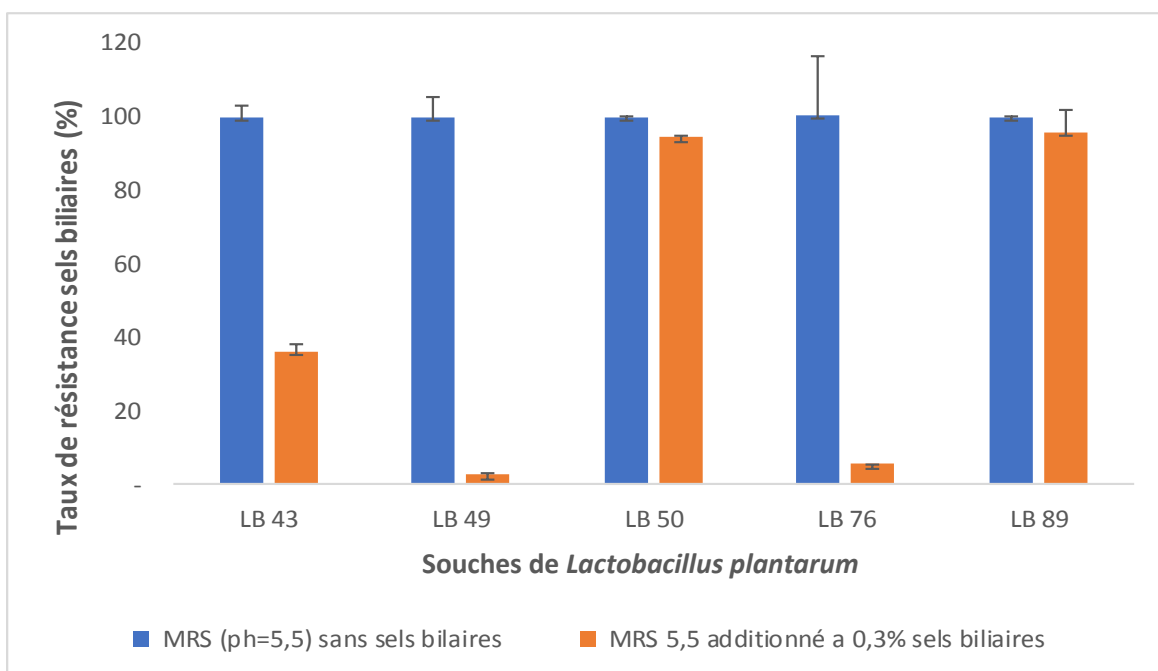


Figure 18 : Résultats de la résistance des souches de *Lb. plantarum* aux sels biliaires

II-5-3-Pouvoir antibactérien

L'activité antibactérienne, *in vitro* de 06 souches de *Lactobacillus plantarum* isolés à partir de miels, contre des souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) a été testée par la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant la technique de double couche ou des touches. Les résultats sont présentés

dans le tableau 8. Ces résultats montrent que toutes les souches présentent un effet antibactérien. L'effet inhibiteur de l'espèce *Lactobacillus plantarum* vis-à-vis des souches pathogènes a été rapporté par plusieurs auteurs (Mounia *et al.*, 2018 ; Lashani *et al.*, 2018 ; Homrani *et al.*, 2019 ; Homrani, 2020). La capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (Ammor *et al.*, 2006). L'effet inhibiteur des lactobacilles peut avoir deux origines principales : la première est la production d'acides organiques (acide lactique et acétique). (Adams *et al.*, 1988) La deuxième origine est que les lactobacilles produisent une autre substance inhibitrice (type bactériocine) active sur de nombreuses espèces (Larsen *et al.*, 1993). La présence des zones d'inhibition en cas d'utilisation d'une culture lactique entière peut être due au métabolisme des glucides en acide lactique qui abaisse le pH et crée un environnement défavorable au développement des bactéries pathogènes (Tabak *et al.*, 2007), au peroxyde d'hydrogène (Barefoot et Klaenhammer, 1984) ou aux bactériocines (Klaenhammer, 1993 ; Vinod Kumar *et al.*, 2006).

Tableau 08 : résultats de l'effet inhibiteur des souches de *Lb. plantarum* vis-à-vis des souches indicatrices.

Les souches pathogènes	Les bactéries lactobacilles	Résultats
<i>Escherichia coli</i>	LB 43	+
<i>Escherichia coli</i>	LB 49	+
<i>Escherichia coli</i>	LB 50	+
<i>Escherichia coli</i>	LB 76	+
<i>Escherichia coli</i>	LB 89	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	LB 43	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	LB 49	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	LB 50	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	LB 76	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	LB 89	+

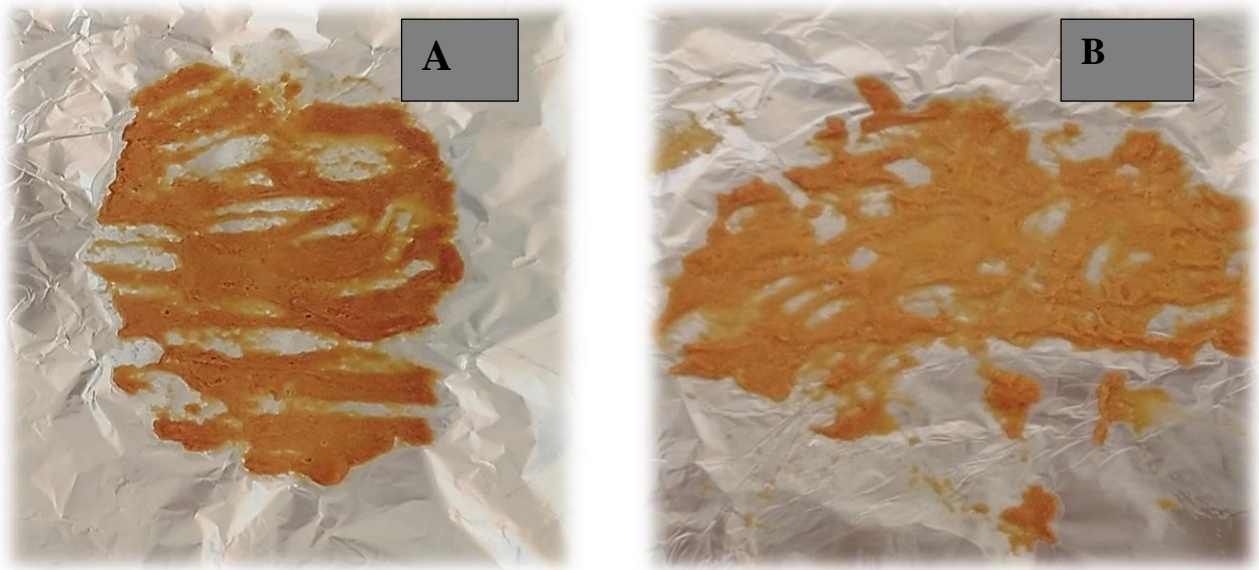
II-6- Fabrication de fromage

Après 24h de fermentation nous avons obtenu un fromage frais. Le caillé a été obtenu par égouttage du lactosérum. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 19. On constate que le caillé obtenu par l'utilisation d'une culture mixte (présure+ lactobacille) est plus liquide que le caillé obtenu par l'utilisation uniquement de lactobacille comme ferment. La fabrication e fromage frais à partir de souche de *Lactobacillus plantarum* a permis d'obtenir un caillé avec de belles propriétés, notamment une couleur blanche, brillante, un arôme merveilleux, une texture douce et lisse et un goût acide moyen. Environ 10 g de caillé de fromage frais obtenu par les ferments lactiques nous ont permis d'obtenir 3,20 g d'extrait sec (Figure 20). En conclusion, nous pouvons dire que d'après les essais que nous avons réalisés, il est possible d'utiliser ces ferments de *Lactobacillus plantarum* pour la fabrication de fromage frais. Mais l'utilisation d'une culture mixte (présure commerciale + ferment de lactobacilles) reste plus satisfaisante et plus intéressante en industrie pour obtenir un produit de meilleure qualité.



Figures 19 : Résultat de caillé obtenu après égouttage de lactosérum. A : caillé mixte ; B : caillé lactique

Figure 20 : Résultat de produit fini (fromage) après étuvage de 3h. A : ferment mixte. B : ferment lactique





CONCLUSION

Notre sujet avait pour objectif de juger l'utilisation des bactéries lactobacilles dans la transformation du lait en ses dérivés. Pour cela nous avons commencé par l'évaluation des aptitudes technologiques de souches de *Lactobacillus plantarum* isolées à partir de miels puis leurs effets probiotiques et enfin nous avons utilisé une des souches étudiées comme ferment dans le processus de fabrication de fromage frais.

D'après les résultats obtenus, Les aptitudes probiotiques de certaines souches de *Lactobacillus plantarum* étudiées se sont révélées très intéressantes du fait de leurs résistances aux traitements pH = 2, aux sels biliaires et contre les bactéries pathogènes. Toutefois des études supplémentaires restent nécessaires pour confirmer l'effet probiotique de ces souches, notamment leurs aptitudes à se fixer au niveau des cellules épithéliales intestinales. Car nous rappelons que pour être actif, un microorganisme probiotique doit avoir la particularité de s'adhérer au niveau de ces cellules.

Les caractéristiques technologiques de ces souches se sont révélées également très intéressantes. Elles ont montré une bonne fonction d'acidification et de coagulation qui sont des facteurs très nécessaires dans L'industrie, en particulier dans l'industrie laitière. Elles sont également productrices d'arômes. Ces caractéristiques nous ont permis par ailleurs de les utiliser pour la fabrication de fromage frais.

Au final, on peut dire que les souches de *Lactobacillus plantarum* isolées de miels révèlent de bonne propriétés technologiques et probiotiques. Elles nous ont également permis d'atteindre des résultats positifs chez les fromages frais à caillé mixte et lactique. Elles peuvent donc être exploitées dans l'industrie agroalimentaire et plus particulièrement laitière.



Annexes

Annexe A

Milieux de cultures

Milieu MRS (deManRogosaetSharpe,1960) : Pour l'isolement des bactéries lactiques	
	Quantité
Compostant	
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0,2g
MnSO ₄	0,05g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH=5,5 /Autoclavage :120°C pendant 20minutes	

Milieu Bouillon Nutritif : Pour les cultures jeunes des bactéries pathogènes	
	Quantité
Compostant	
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillé q.s.p	1000ml
pH=7 / Autoclavage:120°Cpendant20minutes	

<i>Milieu PCA au lait écrémé</i>	
Peptone de caséine	5g
Extrait de levure	2,5g
Glucose	1g
Agar	20g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH=7 /Autoclavage 120°C pendant 20min	
Milieu Clark et Lubs	
Peptone	5g

Annexe A

Glucose	5g
KH ₂ PO ₄	5g
Eaudistillée q.s.p	1000ml
pH =7 /Autoclavage120°Cpendant20min	
Préparation du lait écrémé	
Poudre de lait 0%	100g
Extrait de levure	3g
Eaudistillé q.s.p	1000ml
Autoclavage110°Cpendant10min	
Milieu MSE hypersaccharosé	
Extrait de levure	5g
Tryptone	10g
Saccharose	100g
Glucose	2.5g
Citrate de sodium	1g
Azide de sodium	0.0075g
Eau distillée q.s.p	1000ml
Agar	18g
pH=6,5 /Autoclavage 121°C pendant 15min	
Milieu aux triglycérides	
Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Triglycérides	10g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH=6,5 /Autoclavage: 110°C pendant 15min	
Milieu Mueller Hinton	
Extrait de viande	2g
Peptone	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar	15g
pH=7,4 Autoclavage120°Cpendant20min	

Les étapes de coloration de Gram

- ❖ La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :
- ❖ Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne
- ❖ Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute
- ❖ Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- ❖ Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau
- ❖ Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes
- ❖ Laver à l'eau
- ❖ Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique avec huile d'immersion ($\times 100$)
- ❖ Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.



Figure 04 : Lait écrémé préparé



Figure 03 : Levain obtenu après ensemencement avec une souche de *Lactobacille*

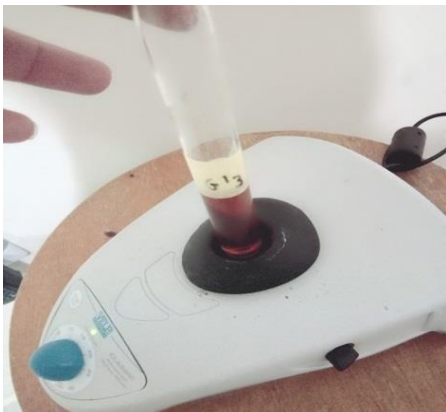
Liste de matériel utilisé



Étuve



pH-mètre



Vortex



Plaque chauffante



Autoclave



Microscope optique



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Agaliya, P.J et Jeevaratnam, K. 2013.** Molecular characterization of lactobacilli isolated from fermented idli batter. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44: 1199 - 1206.
- Ait-Belgnaoui, A., Han, W., Lamine, F., Eutamene, H., Fioramonti, J., Bueno L., Theodorou V. 2006.** Lactobacillus farciminis treatment suppresses stress-induced visceral hypersensitivity: a possible action through an interaction with epithelial cells cytoskeleton contraction in rats. *Gut*, 55(8):1990-4.
- Amar, S.M.Y. 2015.** Effet préventif et curatif de certains aliments fonctionnels sur le développement du cancer colorectal. 124p.
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E. & Chevallier, 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 the antibacterial compounds. *Food control*, 17, 454-461.
- Ammor, m.s. et mayo b. 2007.** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat. Science*, p 138-146.
- Angela., R. N. C. P. 2012.** L. acidophilus contributes to antimicrobial properties of honey. *J. Food Sci.*, 77, 364-371.
- Annuk, h., Shchepetova, j., Kullisaar, t. 2002** Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. Appl. Microbiol*, p 403-412.
- Ariga, h., Urashima, t., Michihata, e. 1992.** *Extracellular polysaccharide from encapsulated Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus* OR 901 isolated from commercial yogurt. *J. Food. Sci.* 57-625.
- Aween, M.M., Hassan Z., Muhialdin B.J., Eljamel Y.A., Al-Mabrok A.S., Lani M.N. 2012.** Antibacterial activity of Lactobacillus acidophilus strains isolated from honey marketed in Malaysia against selected multiple antibiotic resistant (MAR) gram-positive bacteria. *J Food Sci.* 77(7):M364–M371.
- Axelsson, L. 2004** Salminen, vonwright, a., ouwehand, a.c.(ed.) *Lactic acid bacteria microbiology and functional aspects. 3rd edition.*: marceldekkerinc; new york.
- Bahloul, H, Hadadji, M, Guessas, B, Saidi N and Kihal, M. 2012.** Characterization and Technological Properties of Bifidobacterium Strains Isolated from Breast-fed Infants, *Journal of Food Science and Engineering* 2 (2012) 576-582.
- Barefoot, S.F., Kleanhammer, T.R. 1984.** Purification and characterization of the Lactobacillus acidophilus bacteriocin, lactacin. *Antimicrobial Agents chemother.* 26 : 328- 334.
- Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. Et Obert J.P., 2008.** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : *bactéries lactiques, de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & doc, Lavoisier. Paris. 661-765.
- Bekar I et Dalaa A. 2019.** Contribution à l'étude d'aptitudes technologique des bactéries lactique isolées à partir de lait de chèvre. Mémoire de master, Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchen. 66p.

Références bibliographiques

- Benhoua, I. S., Heumann, A., Rieu, A., Guzzo, J., Kihal, M., Bettache, G., Champion, D., Coelho, C. & Weidmann, S. 2019.** Exopolysaccharide produced by *Weissella confusa*: Chemical characterisation, rheology and bioactivity. *International Dairy Journal*, 90, 88-94.
- Bogdanovs., B. 2003.** *Produits apicoles*. 23amiel.2003, p 1-37.
- Bourgeois C.M. et Larpent J.P., 1996.** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 432-704.
- Buist G., Venema G et Kok J., 1998.** Autolysis of *Lactococcus lactis* influenced by proteolysis, *Journal of Biotechnology*. N°22: 5953-5974.
- Bulgasem, B.Y., Lani, M.N., Hassan, Z., Wan Yusoff, W.M., Fnaish, S.G., 2016.** Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic *Candida* Species. *Mycobiology*. 44 (4): 302–309.
- Burns P., Vinderola G., Binetti A., Quiberoni A., de los Reyes-Gavilan C.G. et Reinheimer J., 2008.** Bile-resistant derivatives obtained from non-intestinal dairy lactobacilli. *Int. Dairy J.* 18 :377-385.
- Cannon, J.P., Lee, T.A., BOLANOS, J.T. 2005.** pathogenic relevance of *lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Euro. J. Microbiol Infec Dis*, p 31-40.
- Cerning, J., Bouillanne, M., London, M., Deslazeaud, M.J. 1990.** Comparaison of exocellular polysaccharide production by thermophilic lactic acid bacteria. *Sci Aliments*.10:443-451. *J.challenges for industrial applications*. *Eur. Food Res. Technol*, p1-12.
- Cerning J. 1995.** Production of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria *Lait*, 75 pp. 463-472.
- Champagne, C.P., Roy, D. 2005.** Challenges in the addition of probiotic cultures to FOODS. *CRIT. REV. FOOD SC. NUTR*, P45.
- Charteris, WP., Kelly, PM., Morelli, L., Collins, J.K. 1998.** Antibiotic susceptibility of Potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food. Prot.* 61: 1636–1643.
- 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.
- Corrieu, G. et Luquet, F. M. 2008.** *Bactéries lactiques*. Paris:édition tecet Doc, 2008,p. 849.
- Damin, M. R., Minowa, E., Alcantâra, M. R. et Oliveira, M. N., 2007:** Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. *J. Texture. St.* 39, 40-55.
- Darsanaki, R.K., Laleh rokhi, M., Aliabadi, M.A., Issazadeh, K. (2012).** Antimicrobial Activities of *Lactobacillus* Strains Isolated from Fresh Vegetables. *Middle-East Journal of Scientific Research*; 11 (9): 1216-1219.
- De Roissard H et Luquet FM. (1994).** Bactéries lactiques., *Lorica Uriage*.1, 25-116

Références bibliographiques

- De roissart. H.B. 1986.** Les bactéries lactiques. Dans : *le lait et les produits laitiers*. Luquet F. M., 3, Ed. Techniques et Documentations Lavoisier. Paris.
- De vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F., Degeest, B. 2001.** Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria *Int. Dairy J.*, 11 pp. 687-707.
- Dellagio F., De roissard, H., TORRIANI, S. 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans: *Bactéries lactiques* De Roissard H. Et Luquet F.M. Loriga, Uriage, 1994, p 25.
- Dortu, C. 2008.** Isolement d'une bactérie lactique produisant de la sakacin G et utilisation sur des matrices alimentaires. Thèse de doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique, Faculté des sciences universitaire agronomiques de Gembloux, p14-15.
- Endo A, Futagawa-Endo Y, Dicks LMT. 2009.** Isolation and characterization of fructophilic lactic acid bacteria from fructose-rich niches. *Syst Appl Microbiol* ;32:593–600.
- Endo A, Salminen S. 2013.** Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic acid bacteria. *Syst Appl Microbiol* ;36:444–448.
- Fernandez, L., Beerthuyzen, MM, Brown J., Coolbear, T., Holland R et Kuipers OP. 2000.** Cloning, Characterization, controlled overexpression and inactivation of major tributyrin esterase gene of *Lactococcus lactis*. *App. Env. Microbiol.* 66,1360-1368.
- Fleming, H.P., Etchells, J.L. Et Costilow, R.N. 1975.** Microbial inhibition of isolates of *pediococcus* from cucumber brine. *Appl. Env. Microbiol.* 30 : 1040-1042.
- Franz C.M.A.P and Stiles M.E, 2003.** Enterococci in foods - a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology. Functional and Safety Aspects*, vol. 88, p. 105-122.
- Fuller R 1989.** *Probiotics in man and animals*. A review. *J. Appl. Bacteriol*, p 365-378.
- Garrity G.M., Holtj. G. 2004.** *Taxonomic outline of the archaea and bacteria bergey's manual of systematic bacteriology*. 2^{ème}ed. Taxonomic outline of the archaea and bacteria bergey's manual of systematic bacteriology, ed. Vol.: springer.
- Gill, C. Et Rowland, I. Diet and cancer: assessing the risk.** *Br. J. Nutr* , 2002 , p88-87.
- Gilliland, S.E. 2001.** *Probiotics and probiotics. Appl.dairy microbiol.* 2nded. Dekker. 2001, p 327-343.
- Guessas, B., Hadadji, M., Said, N. And Kihal, M., 2006.** Inhibition of *staphylococcus aureus* growth by lactic acid bacteria in milk. *Dirasat, agricultural sci.* 32: 3, 304-312.
- Guiraud J.P., 2003.** *Microbiologie alimentaire*. Tec & doc, dunod. Paris. 90-292.
- Guiraud, J.P., Rosec J.P., 2004.** *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Afnor. 237-251.
- Hamedi, A.R. 2008.** Etude du potentiel probiotique et technologique des lactobacilles isolés du lait cru de chamelle, mémoire : université d'Oran faculté des sciences département biologie, p 13.

Références bibliographiques

- Harrigan, W.F., Mccance, M.E. 1976.** Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press, London ISBN: 012326040X.
- Harris, S. 1994.** *Honey for the treatment of superficial wounds* : acase report and review. primary intention ; p18-23.
- Hasali, N.H.M., Zamri, A.I., Lani, M.N., Mubarak, A., Suhaili, Z. 2015.** Identification of lactic acid bacteria from Meliponine honey and their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. AEJSA. 9(6): 1-6.
- 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., Frank, J. F., Farmer, M. A., Schmidt, K. A. et Shalabi, S. I., 1995 :** Formation of yogurt microstructure and three-dimensional visualization as determined by confocal scanning laser microscopy. J. Dairy. Sci. 78-2629.
- Hassanzadazar, H., Ehsani, A., Mardani, K., Hesari, J. 2012.** Investigation of antibacterial, acid and bile tolerance properties of lactobacilli isolated from Koozeh cheese. Veterinary Research. Forum.; 3 (3) 181 –185
- Hatting, R. W. Et Viljeon M. 2001.** *Metabolism of starter cultures*. Appl. Dairy microbiol.2nd ed.Dekker.
- Heyman, M., Et Heuviel, E.2006.** *Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique:leparadoxe*. Nutr. Clin.Métabol, p 85-94.
- Hickey, M. W., Hillier, A. J. et Jago, G. R., 1983:** Enzymatic activities associated with lactobacilli in dairy products. Aust. J. Dairy. Tech. 38-154.
- Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R., 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R. 2001.** Geisen R, Björkroth J, Schillinger U, Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 73, Issue 2, Pages 365s–373s.
- Homrani M. 2020.** Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. Thèse de doctorat. Univ Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P253.
- Homrani, M, Dalache, F, Bouzouina, M, Nemmiche, S, Homrani, AEK. 2019.** Antibacterial Activities of Algerian raw Honeys and Isolated Lactobacillus against Gram- negative Bacteria. : *Advances in bioreasearch*, 1(10). 31-39.
- Hutt, P., Shchepetova, J., Loivukene, K., Kullisaar, T., Mikelsaar, M. 2006.** *Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens*. J. Appl.Microbiol ,2006 13-32.
- Zago M., Fornasari M.E., Carminati D., Burns P., Suárez V., Vinderola G., Reinheime J. Et Giraffa G., 2011.** Characterization and probiotic potential of Lactobacillus plantarum strains isolated from cheeses. Food Microbiol. 28 : 1033-1040.

Références bibliographiques

- Jonkers, D., Stockbrügger, R. 2007.** *Probiotics in gastrointestinal and liver diseases. Rev. Art.Alim.Pharm. Ther.*
- Kajander, K., Myllyluoma, E., Rajilic-Stojanovic, M. 2007.** *Clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. Alim. Pharm. Ther.* p 48-57.
- Khalid, N.M., Marth, E.H. 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: *Ripening and spoilage of cheese. Rev. dairysci*, 1990, p 158-167.
- Klaenhammer, T.R. 1993.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 12 : 39-86.
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte C., Reuter, G. 1998.** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 41:103–125
- Koning C., Jonkers D. 2008.** *The effect of a multi specie s probiotic on the intestinal microbiota and bowel movements in healthy volunteers taking the antibiotic amoxicillin. Amer. Jour. Of gastro.* p 178-189.
- Laboui, H., Elmoualdi, L. 2005.** *Sélections des souches de bactéries lactiques antibactériennes. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux*, p 144.
- Lactobacillus* strains isolated from fresh vegetables. *Middle East J. Sci. Res*
- Lamoureux L, 2000.** *Exploitation de l'activité β -galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir de s produits laitiers en galacto-oligosaccharides. National library of Canada* , p 23-47.
- Larpen J.P. And Larpen G.M. 1990.** *Mémento technique de microbiologie 2ème ed. technique et documentaire lavoisier, paris*, p: 417.
- Larpen J.P. 1997.** « Analyse des croûtes de fromage » ; in : «Microbiologie Alimentaire». Ed. Larpen, Tec. Doc., 1ère Ed., Lavoisier, Paris. 10-72.
- Larsen, A.G., Vogensen, F.K., Josephsen J. 1993.** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* mi401. *J Appl Bacteriol.* 75 : 113-122.
- Lashani, E., Davoodabadi, A., Soltandallal, M.M. 2018.** Antimicrobial Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Paracasei* Isolated from Honey against *Staphylococcus Aureus*. *J Babol Univ Med Sci.* 20 (3): 44-49.
- Leisner J. J., Vancanneyt M., Goris J., Christensen H., Rusul G. 2000;** Description of *ParaLactobacillus selangorensis* gen. nov., sp. nov., a new lactic acid bacterium isolated from chili bo, a Malaysian food ingredient. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:19–24 [[View Article](#)][[PubMed](#)].
- Léonard L. 2013.** Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique. These de doctorat. Université de Bourgogne, 2013.
- 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., Boiux, M., De roissart, H.B. 1991.** La flore lactique dans : *technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2e ed., Tec & Doc, Lavoisier. Paris*, p 3.

Références bibliographiques

- Leveau, J.Y et Bouix,M. 1993.** Microbiologie industrielle dans : *les microorganismes d'intérêt industriel*. Tec&doc, lavoisier.Paris , p85-87.
- Liu, SQ., Holland, R., Crow, VL. 2001.** Purification and properties of intracellular esterases from *Streptococcus thermophilus*. *International Dairy Journal*, vol 11: 27-35.
- Lourens-Hatting, A. Et Viljeon, C. B . 2001.** *Yogurt as probiotic carrier food*. *Int. Dairy* , p 11 .
- 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
- Malin, M., Suomalainen, H., Saxelin, M. 1996.** *Promotion of iga immuneresponse in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with Lactobacillus GG*. *Ann.Nutr*, p 45.
- Mami, A. 2007.** *Le biocontrôle de staphylococcus aureus par les bactéries lactiques du genre Lactobacillus isolées du lait cru de chèvre*. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en microbiologie appliquée. Université d'Oran, consulté le 20/07/2021.
- Marshall, VM. Etoile, W.M. 1983.** Threonine aldolase and coenzyme hydrogenase activities in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and their contribution to flavor production in fermented foods. *J.dairy.Res*,1983.
- Mato, I., Huidobro, J.F., Simal-Lozano, J., 2006.** Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 1541–1550.
- Mayeux, J., Elliker, P. & Sandine, W. 1962.** Selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed-strain starter cultures. *Journal of Dairy Science*. American Dairy Science Association 1111 N DUNLAP AVE, SAVOY, IL 61874, 655-&.
- Mäyrä-mäkinen et Bigret. 2004.** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In :
- Mechai 2009.** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Université de annaba, these de doctorat, 99p
- Mehidi, N. 2015.** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle. Mémoire de Master, Université de tlemcen, 58p.
- Monnet V., Latrille E., Beal C. ET Corrieu G. 2008.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : *bactéries lactiques de la génétique aux ferments* . Tec&doc,lavoisier.Paris, p512-592
- Montville T.J., Meyer M.E., Hsu A.H.M. And Huang G.T.C., 1987.** High pressure liquid chromatography and wide bore capillary gas-liquid chromatography methods for quantification of acetoin and diacetyl from bacterial cultures. *Journal of microbiological methods* 7: 1- 8.
- Mounia H, Dalache F, Bouzouina M, Nemmiche S, Homrani AEK. 2018.** Antibacterial activity of *Lactobacilli* detected in Algerian raw honeys against gram-negative bacteria. *SAJEB*, 3(8).
- Nielsen, D.S., Jacobsen, T., Jespersen, G., Kocha, G., Arneborg, N. 2008.** Occurrence and growth of yeasts in processed meat products -Implications for potential spoilage. *Meat Science*, vol. 80,p.919-926.
- Olaitan, P.B., Adeleke, O.E.2007.** *Reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes*. *African health sciences*, p159-165.

Références bibliographiques

- Olofsson, T.C., Vásquez, A. 2008.** Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honey bee *Apis mellifera*. *Curr Microbiol.* 57:356–363.
- Olofsson, T.C., Alsterfjord, M., Nilson, B., Butler, E., Vasquez, A. 2014.** *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifera* sp. nov., *Lactobacillus melliss* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera* *Int J Syst Evol Microbiol.* 64(9) : 3109-3119.
- Olofsson, T.C., Butler, E., Markowicz, P., Lindholm, C., Larsson, L., Vasquez, A. 2016.** Lactic acid bacterial symbionts in honeybees - an unknown key to honey's antimicrobial and therapeutic activities. *International Wound Journal.* 13(5): 668-679.
- Orla-Jensen S., 1919.** The lactic acid bacteria. A.f. hostand son, koenighichen hof- boghamdel, copenhagen.
- O'Sullivan L., Ross R.P. & Hill C. 2002.** Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, **84**, 593-604. p 343-407
- Pajor, M., Worobo, R.W., Milewski, S., Szweda, P. 2018.** The Antimicrobial Potential of Bacteria Isolated from Honey Samples Produced in the Apiaries Located in Pomeranian Voivodeship in Northern Poland. *International journal of environmental research and public health.* 15(9), 2002. doi:10.3390/ijerph15092002.
- Perdigón G, Fuller R, Raya R (2001)** Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol* 2:27–42.
- Petry S., Furlana S., Waghornec E., Saulnier 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.
- Silva, M.S., Rabadzhiev, Y., Eller, M.R., Iliev, I., Ivanova, I., Santana, W.C. 2017.** Microorganisms in Honey. *Intech*, editor. *Honey Analysis: Toledo VA.* p. 233-258.
- Pham, I. C., van spanning, r. J. M., röling, w. F. M., prosperi, a. C . 2008.** Effects of probiotic *Lactobacillus salivarius* w24 on the compositional stability of oral microbial communities. *Archives of oral biology* 54(2): 132-137.
- Piccart, K., Vásquez, A., Piepers, S., De Vlieghe, S., Olofsson, T.C. 2016.** Short communication: Lactic acid bacteria from the honeybee inhibit the in vitro growth of mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science.* 99(4): 2940–2944.
- Pilet M.F., Magras C., Federigh M. 2005.** Bactéries lactiques. In : *bactériologie alimentaire.* 2ed., Economica. Paris p219-240.
- Ray, B., Moltagh, A. And Johnson, M.C. 1993.** Processing of prepediocin in *Pediococcus acidilactici* .*FEMS Microbiol. Rev.*12:119-123.
- Reyes-Gavillan, C.G., Suarez, A., Fernandez-Garcia, M. 2011.** Adhesion of bile –adapted *Bifidobacterium* strains to the HT29-MTX cell line is modified after sequential gastrointestinal challenge simulated in vitro using human gastric and duodenal juices. *Res.Microbiol* , 2011 , p162 .
- Rochat, F. 2004.** Effets biologiques des modificateurs de la flore intestinale. *Arch.Pédia*, p 57 .

Références bibliographiques

- Rokka S., Rantamaki P. 2010.** Protecting probiotic bacteria by microencapsulation : challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology* 231: 1-12.
- Salminen, S., Playne, M. Et Lee, Y. 2003.** *Successful probiotic lactobacilli: human studies on probiotic efficacy.* Shortt.C et O'Brien.J. Handbook. Function. Dairy. Prod , 2003, p13-21.
- Schirch V., Hopkins S., Villar E. and Angelaccio S. 1985.** Serine hydroxymethyl transferase from *Escherichia coli*: purification and properties; *J. Bacteriol.* 163: 1-7
- Singleton, P. 1999.** bactériologie. 4ème édition. Dunod, paris. 317 pages.
- Slover, C. M. et Danziger, L . 2008.** *Lactobacillus. A review Clin micronewslett* ,p 4-23-27.
- Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S. 2004.** *The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: A review.* *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 113-137.
- Stiles, M.E. Et Holzapfel W.H. 1997.** *Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.* *Int.J. Food Microbiol*, 1997, p 36.
- Tajabadi, N., Mardan, M., Abdul Manap, M., Shuhaimi ,M., Meimandipour, A., Nateghi, L. 2011.** Detection and identification of *Lactobacillus* bacteria found in the honey stomach of the giant honeybee *Apis dorsata*. *Apidologie*, Springer Verlag, 42 (5) :642-649
- Tamime, A.Y., Saarela, M., Sondergaard, A. 2005.** *Production and Maintenance of Viability of probiotic micro-organisms.* *Dairy. Prod*, p 72 .
- Temmerman, R. 2003.** *Culture-dependent and culture-independent microbial analysis of probiotics.* Thèse pour l'obtention du grade de ph.D. Université de Ghent. Belgique, p 17.
- Temmerman, R., Pot, B. 2003.** Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol* , p 81 .
- Topisirovic L., Kojic M., Fira D., Golic N., Strahinic I., Lozo J. 2006.** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int J of Food Microbiol*, vol. 112, p. 230-235.
- Trepanier, G., Simard, R. E., LEE, B. H. 1991.** *lactic acid bacteria relation to accelerated maturation of cheddar cheese.* *J. Food. Sc.* 56-1238.
- Tuohy, K. M., Pinart-Gilberga, M. 2006.** *Survivability of a probiotic Lactobacillus casei in the gastro-intestina tract of human volunteers and its impact on the faecal microflora.* *J. Appl. Microbiol* , 2006 , p 102 .
- Valenzuela, A.S., Ruiz, G 2008.** inhibition of food poisoning and pathogenic bacteria by *Lactobacillus plantarum* strain 2.9 isolated from bensaalga, both in a culture medium and in food. *Food. Control*, p84.
- Vandamme P and Pot B. 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.*, 1996, p407-438.

Références bibliographiques

- Vesterlund, S., Vankerckhoven, V. 2007.** *Safety assessment of Lactobacillus strains: Presence of putative risk factors in faecal, blood and probiotic isolates. Int. J. Food. Microbiol.*, p 116.
- Veuillemard, J.C. 1986.** Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec & doc, lavoisier. Paris. 3 :1-65.
- Vinod Kumar, J., Somesh, S., Neerja, S. 2006.** Production, purification, stability and efficacy of bacteriocin from isolated of Natural Lactic acid fermentation of vegetables. Food technology and Biotechnology, 44 (3) : 435- 439.
- Visser S, Slangen KJ, Hup G, Exterkate FA, Stadhouders J. 1983.** The bitter flavour defect in cheese; some chemical and microbiological aspects. Neth Milk Dairy J 37, 250-25
- Walstra P., Geurts T.J., Noomen A., Jellema A., Van Boekel M.A.J.S.1999.** Dairy technology, principles of milk properties and processes. Food science and technology. New York-Basel: Marcel Dekker Inc, p. 325-515.
- Welman A.D., Maddox I.S., 2003.** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria perspectives and challenges. Trends in Biotechnology, vol. 21, p. 269-274.
- Wilson MA, St Amour CV, Collins JL, Ringe D, Petsko GA. 2003.** The 1.8-Å resolution crystal structure of YDR533Cp from *Saccharomyces cerevisiae*: a member of the DJ-1/ThiJ/PfpI superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(6):1531-6
- Wilson, A.R., Sigeo, D. 2004.** *Anti-bacterial activity of lactobacillus plantarum strain SK1 against Listeria monocytogenes is due to lactic acid production. J. Appl. Microbiol.*, p 99.
- Zarour, K., Vieco, N., Pérez-Ramos, A., Nácher-Vázquez, M., Mohedano, M. L. & López, P. 2017.** Food Ingredients Synthesized by Lactic Acid Bacteria. Microbial Production of Food Ingredients and Additives. Elsevier, 1589-124.
- Zarour, K. 2018.** Etude de la diversité phénotypique, génotypique et aptitudes technologiques des souches de *Leuconostoc* isolées localement, Thèse Doctorat, Université Oran 1.
- Zourari, A., S. Roger, C. Chabanet and M. Desmazeaud. 1991.** Caractérisation de bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts.

Résumé

Ces dernières années un regain d'intérêt a été porté sur les bactéries lactiques et plus particulièrement le genre *Lactobacillus* en raison de leurs utilités dans le domaine de la biotechnologie. Ainsi, la présente étude avait pour objectifs d'évaluer les caractéristiques probiotiques et les aptitudes technologiques de souches de *Lactobacillus plantarum* isolées à partir miel d'abeille algérien. Au total six (N=06) souches ont été testé. Dans un premier temps nous avons confirmé l'appartenance de ses bactéries au genre *Lactobacillus* par l'observation de l'aspect macroscopique, le test de catalase et la coloration de Gram. Par la suite, nous avons testé leurs aptitudes technologiques à savoir : Le pouvoir acidifiant, texturant, aromatisant, protéolytique, lipolytique et la production d'EPS ; puis nous avons déterminé leurs effets probiotiques par l'évaluation de leurs capacités à résister à l'acidité, aux sels biliaries ainsi que leur pouvoir antibactérien. Enfin nous avons utilisé une des souches testées pour la fabrication d'un fromage frais. Les résultats ont révélé que les souches étudiées présentent une bonne force de coagulation et d'acidification, ce qui nous a permis de les utiliser pour la fabrication de fromage frais. Les aptitudes probiotiques de certaines souches de *Lactobacillus plantarum* étudiées se sont révélées très intéressantes. En conclusion, on peut dire que les souches de *Lactobacillus plantarum* isolées de miels révèlent de bonne propriétés technologiques et probiotiques. Ils peuvent donc être exploitées dans l'industrie agroalimentaire et plus particulièrement laitière.

. **Mots clés :** *Lactobacillus plantarum*, effets technologiques, Miel d'abeille, effets probiotiques