

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

N°...../SNV/2020

Présenté par

*Hamida Nour El houda*

*Et*

*Lahouali Mama*

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE**

**THÈME**

*Etude de l'activité anti-oxydante  
des bactéries lactiques*

Déposé le 14/07/2021

DEVANT LE JURY

Présidente: Mme ZERROUKI Kheira

MCB à U. Mostaganem

Promotrice: Mme KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima

MAA à U. Mostaganem

Examinatrice: Mme YAHLA Imen

MCB à U. Mostaganem

*Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem*

*Année universitaire : 2020/2021.*

*Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des aliments fonctionnelles et de santé LMBAFS*

# Dédicace

Je dédie ce travail

A Mon cher papa LAHOUALI Mohamed et ma tendre

maman Fatima

vous êtes un pilier solide et incontournable dans mon parcours d'étude

Que ce travail soit la preuve de mon amour et ma gratitude envers

vous pour vos sacrifices et les précieux conseils et encouragements tout au long de ces

années de

ma vie, merci pour votre amour, votre soutien et vos prières pour

ma réussite. Que Dieu vous procure longue vie et bonne santé.

A Mon beau père KADA paix à son âme et ma belle-mère Fatima

A Mon cher mari :

MESKINE BOUALEM Hamza

Pour sa présence, sa compréhension, son encouragement, et son soutien moral.

A Mes beaux frères : Zohir et Oussama

A Mes belles sœurs :Zahia,Marwa, Kawthar

A Mon binôme et ma belle : Nour

A Mes très chères amies :

Zineb,Nadjjet, Assia, Farida, Hanane,Kheira.

A Tous mes collègues au travail

Nourelhilal, Akila, Amira, Nacira, Djawhar, Batoul...

A Mes amies de la promotion Master II Nutrition Et Pathologie 2020/2021.

Mamia

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :  
A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, à la source d'amour a ma maman  
chérie qui ma bénies par ces prières  
A mon support dans ma vie mon papa  
A l'homme de ma vie je remerciais pour son aide, encouragements.  
A mes chères sœur Radja et Bouchra  
Tous mes chers amis qui ont étaient toujours avec moi avec leurs aides et  
soutiens  
A mon Binôme «Mamia» avec qui j'ai partagé des moments agréables au  
cours de notre travail ensemble  
Sans oublier mes Amies de la promotion Master II Nutrition et Pathologie  
de l'année 2020/2021.

*NOOR*

## *Remerciements*

Avant tout nous remercions le bon Dieu tout puissant de nous avoir permis d'accomplir ce travail et de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos remerciements à notre Directrice:

Mme KOUADRI BOUDJELTHIA NACIMA

Merci de nous avoir fait l'honneur de diriger l'élaboration de ce mémoire sur un sujet passionnant, merci pour votre sérieux et vos conseils.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury:

Dr. ZERROUKI KHEIRA ,La Présidente du jury et

Dr. YAHLA IMEN, Examinatrice

Merci chères enseignantes d'avoir accepté d'évaluer notre travail

Sans oublier de remercier les techniciens et techniciennes du Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la santé (LMBAFS) et le laboratoire pédagogique de microbiologie n°1 & 3 de la faculté SNV .

Nos respects pour tous les professeurs et enseignants de notre cursus à l'Université de Abdelhamid Ibn Bdis

## Résumé:

L'objectif du travail est d'évaluer le potentiel antioxydant de huit souches de bactéries lactiques, dont six souches de *Lactobacillus sp* nouvellement identifiées et deux souches témoins la BB12 et la souche LBE (*Lactobacillus rhamnosus*). Les techniques mises en évidence pour l'exploration de l'effet antioxydant sont le pouvoir réducteur qui consiste à réduire le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup>, la capacité de piégeage des radicaux libres par le test du DPPH et le test d'anti peroxydation lipidique. Les résultats obtenus montrent que les souches possèdent un pouvoir réducteur important variant de 34% jusqu'à 71,4%. Toutes les souches possèdent aussi la capacité de piégeage du DPPH et les taux varient selon la souche considérée entre 59,2% et 90,4%. De même, toutes les souches présentent un effet d'anti peroxydation lipidique avec un taux maximal de 70,5% et un minimum de 17,5%.

Les mots clés : bactéries lactiques, probiotiques, in vitro, l'antioxydant, pouvoir réducteur, stress oxydatif

## Abstract:

This work aim to evaluate the antioxidant potential of eight strains of lactic acid bacteria, including six newly identified strains of lactobacilli and two control strains BB12 and the LBE strain (*Lactobacillus rhamnosus*). The reducing power which consists in reducing the ferric iron Fe<sup>3+</sup> to ferrous iron Fe<sup>2+</sup>, the scavenging capacity of free radicals by the DPPH test and the anti lipid peroxidation test, are studied. The results showed a significant reducing power strains ranging from 34% to 71,4%. the strains capacity to trap DPPH and the levels varied between 59,2% and 90,4%. Finally, all the strains exhibited an anti-lipid peroxidation effect with a maximum level of 70,5% and a minimum of 17,5%.

Keywords: lactic acid bacteria, probiotics, in vitro, antioxidant, reducing power, oxidative stress.

## ملخص

الهدف من العمل هو تقييم إمكانات مضادات الأكسدة لثمانى سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك ، بما في ذلك ست سلالات LBE (*Lactobacillus rhamnosus*) وسلالة BB12 تم تحديدها حديثاً من العصيات اللبنية وسلالتين تحكم إن التقنيات التي تم إبرازها لاستكشاف التأثير المضاد للأكسدة هي القوة المختزلة التي تتكون من تقليل الحديد الحديدي واختبار مضاد بيروكسيد DPPH المراد دراسته ، وقدرة الكسح للجذور الحرة عن طريق اختبار Fe<sup>2+</sup> إلى حديد Fe<sup>3+</sup> أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن السلالات لها قدرة اختزال كبيرة تتراوح من 34% إلى 71,4%. تتمتع الدهون وتفاوتت المستويات وفقاً للسلالة التي اعتبرت بين 59,2% و 90,4%. جميع السلالات أيضاً بالقدرة على اصطياد وبالمثل ، أظهرت جميع السلالات تأثير بيروكسيد مضاد للدهون بحد أقصى 70,5% وحد أدنى 17,5%.

الكلمات الرئيسية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، البروبيوتيك ، في الفيترو ، ومضادات الأكسدة ، والحد من الطاقة ، والشوارع المؤكسد

# Sommaire

Dédicace

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux et figures

Introduction .....1

## Partie I : synthèse bibliographique

I.des bactéries lactiques.....2

I.1.Caractéristiques générales.....2

voie homofermentaire.....2

voie hétérofermentaire.....3

I.2.Classification des principaux genres des bactéries lactiques.....5

I.2.1.Genre Lactobacillus.....5

I.2,2.Genre Lactococcus.....5

I.2,3.Genre Leuconostoc.....6

I.2,4.Genre Stréptococcus.....6

I.2,5.Genre Pédicoccus.....6

I.2,6.Genre Entéroccoccus.....6

I.2,7.Genre Bifidobactérium.....7

I.3.intérêt des bactéries lactiques.....7

I.3,1.Dans le domaine alimentaire.....7

I.3,2. Dans le domaine thérapeutique.....	8
I.4. Le potentiel antioxydant des bactéries lactiques.....	8
<b>II. .Stress Oxydatif Et Activité Anti Oxydante.....</b>	<b>9</b>
II.1. Les Radicaux Libres.....	9
II.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	9
II.2. Les espèces réactives azotées (ERN).....	10
II.2. Définition du stress oxydatif.....	12
II.3. Le Pouvoir antioxydant.....	12
II.3,1. Les antioxydants de nature enzymatique.....	12
II.3,1,1. Les superoxydes dismutases (SOD).....	12
II.3,1,2. La glutathion peroxydase (GSHPx).....	13
II.3,1,3. La catalase (CAT).....	13
II.3,2. Les antioxydants non enzymatiques.....	13
II.4. Méthodes de détermination de l'activité anti-oxydante.....	14
II.4,1. Évaluation par méthode du DPPH.....	14
II.4,2. La résistance au peroxyde d'hydrogène.....	15
II.4,3. La capacité de piéger les radicaux hydroxyles.....	15
II.4,4. La capacité de chélation des ions de fer.....	14
<b>Partie II : Matériels et Méthodes</b>	
1. Matériels.....	16
1,1. Origine des bactéries lactiques.....	16
1.2. Milieux de cultures et réactifs.....	16
1.3. Les solutions utilisées.....	16
1.4. Appareillage.....	16
2. Méthodes :.....	17

<b>2,1.Réactivation des souches.....</b>	<b>17</b>
<b>2,2.Préparation de l'inoculum.....</b>	<b>17</b>
<b>2,3.Pouvoir réducteur des bactéries :.....</b>	<b>18</b>
<b>2,4.Activité de piégeage des radicaux libres par 2 2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH) .....</b>	<b>19</b>
<b>2,5.Activité d'anti peroxydation lipidique.....</b>	<b>19</b>
<b>Partie III :Résultats et Discussions</b>	
<b>III.1.Pouvoir réducteur FRAP.....</b>	<b>21</b>
<b>III.2.Piégeage du radical libre le DPPH.....</b>	<b>22</b>
<b>III.3.L'activité d'anti-peroxydation lipidique.....</b>	<b>23</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>24</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	
<b>Annexe01</b>	
<b>Annexe 02</b>	

## **Liste des abréviations :**

**AFSSA** : agence française de sécurité sanitaire des aliments

**AO** : Agent Oxydant

**ARN** : Acide RiboNucléique

**ATP**: Adénosine Triphosphate   **CO<sub>2</sub>**: dioxyde de carbone

**DO** : Densité Optique

**ERO** : Espèces Réactives de l'O<sub>2</sub>

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**GPX** : Glutathion Peroxydase

**GR** : Glutathion Réductase

**Ig**: Immunoglobulines

**Lb** : Lactobacillus

**LMBAFS** : Laboratoire des Micro-organismes Bénéfiques des Aliments

Fonctionnels de la Santé

**MRS** :de Man-Regosa et Sharp

**NOS** : Oxyde Nitrique Synthétase

**OMS** : Organisation Mondiale de Santé

**SOD** : SuperoxydeDismutase

**Sp** : Espèce.   **µl**: microlitre

**TRX** : Thioridoxine Peroxydase

## Liste des figures :

Figure 01	Schéma des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques. (Drider.2009). <b>page 3</b>
Figure 2	Mécanisme de la biosynthèse de NO par la NO-synthase à partir de L-arginine. <b>page 11</b>
Figure 03	La réaction de la dismutation de l'O <sub>2</sub> <sup>-</sup> en H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (Gardès-Albert., 2003 ). <b>page 11</b>
Figure 04	Le glutathion (GSH) intervient comme co-facteur dans la GSH peroxydase (Goudable et al., 1997) . <b>page 13</b>
Figure 05	Représentation schématique de la réactivation des souches lactiques. <b>page 17</b>
Figure06	Test du pouvoir réducteur des bactéries adapté par (Bae et al., 2010). <b>page 18</b>
Figure 07	un schéma représente les étapes du test de la capacité de piégeage des radicaux libres par le DPPH ,adapté par (Hsu et al. 2008). <b>page 19</b>
Figure08	Schéma protocolaire du test de la Peroxydation anti-lipidique adapté par Hsu et al.(2008). <b>page 20</b>
Figure09	Résultats du pouvoir de réduction des ions Fe <sup>3+</sup> en Fe <sup>2+</sup> en (%) par les souches lactiques. <b>page 21</b>
Figure 10	Résultats de la capacité de piégeage du DPPH (%) par les souches lactiques. <b>page 22</b>

Figure11

Résultats d'activité d'anti peroxydation  
lipidique en (%) des souches lactiques.**page**  
**23**

**Liste des tableaux :**

Tableau 01	les principales espèces réactives de l'oxygène(Garrel et al.,2007). <b>page 10</b>
Tableau 02	Les différentes souches utilisées dans les tests étudiées. <b>page 16</b>

# *Introduction*

## **Introduction:**

Un antioxydant est une substance qui en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable qui, de manière significative retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat. Il peut agir en supprimant les ROS ou en empêchant leur formation ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci (**Halliwell, 1991**).

La génération des espèces réactives de l'oxygène dénommées ROS (Reactive Oxygen Species) se produit naturellement au cours de la respiration cellulaire (**Tarnawski et al., 2005**). Les ROS désignent une appellation collective et comprennent les radicaux libres et certaines molécules qui sont des agents d'oxydation et ou facilement convertis en radicaux. Les ROS dont les plus courants : le radical hydroxyl ( $\bullet\text{OH}$ ), l'anion superoxyde ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), le dioxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) endommagent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). L'évolution de cette oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telles que le diabète, le cancer, les infections inflammatoires, les maladies cardiaques ou neuro-dégénératives et accélèrent le processus de vieillissement (**Luximon et al., 2002 ; Dasgupta et al., 2007**).

Un grand intérêt est porté par plusieurs chercheurs sur l'utilisation d'antioxydant naturelles pour aider l'organisme à lutter contre le stress oxydatif; parmi eux l'utilisation des bactéries lactiques (**Benyoucef, 2018**). Le groupe des bactéries lactiques héberge un mélange variable de plusieurs souches ou espèces de bactéries. Ils occupent des niches écologiques extrêmement variées ; notamment l'intestin humain ; ils ont la capacité de fermenter les hydrates de carbonnes, et de dégrader les protéines et les lipides menant à la synthèse d'une large gamme de composés élémentaires au métabolisme tels que les acides organiques, les peptides ; les composés antimicrobiens (prébiotiques) ...etc. Ces métabolites peuvent contribuer aussi aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés (**MOZZI et al., 2010**).

Ce travail structuré en trois parties vise à mettre en évidence in vitro le potentiel antioxydant de quelques souches de bactéries lactiques. La première partie est consacrée à des rappels bibliographiques sur les bactéries lactiques et le potentiel anti-oxydant, la deuxième partie c'est la partie expérimentale du travail et dans la dernière partie, les résultats sont exprimés et discutés. Au final, la conclusion du travail.

*Rappel*  
*bibliographique*

## Rappel Bibliographique

### I.1. Caractéristiques générales:

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes organotrophes de forme hétérogène cocci et de bacilli (**Badis et al., 2005**). Ce sont des bactéries à Gram positif. Elles sont asporulantes, anaérobies facultatives, à métabolisme fermentaire strict et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 6,5. Ces bactéries sont généralement immobiles et se caractérisent par la production d'acide lactique comme produit majeur du métabolisme fermentaire. (**Salminen et al., 2004; König et al., 2009 ; Pringsulaka et al., 2011**).

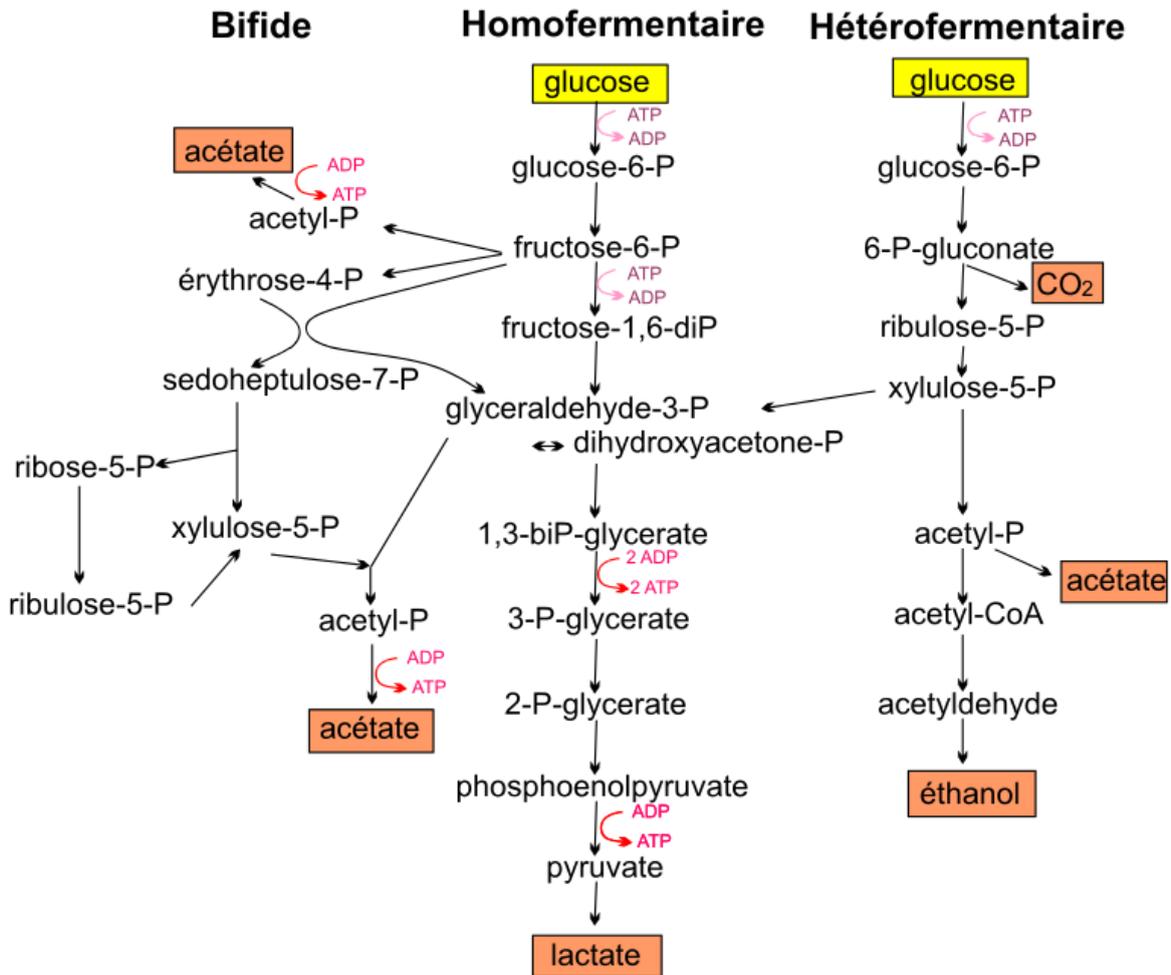
Elles sont considérées comme un groupe bactérien le plus exigeant du point de vue nutritionnel, car elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés ainsi que des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligoéléments (**Gevers.,2002**). Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels, des végétaux (Plantes et fruits), des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait) mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (**De Roissart, 1986**).

En se basant sur la voie empruntée et le produit final de la fermentation, les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes(**Figure-01**):

- **Homo fermentaires:** les bactéries lactiques ici empruntent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose). Après son transfert vers la cellule, le glucose subit une phosphorylation pour se transformer en fructose qui est à son tour phosphorylé en fructose 1-6 di-phosphate puis clivé en dihydroxyacétone phosphate et glycéraldéhyde phosphate (GAP), ces deux derniers sont convertis en pyruvate. Le pyruvate est dans une dernière étape réduit en acide lactique qui est le produit unique: c'est la fermentation homolactique. Dans les conditions défavorables telles la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO<sub>2</sub> par la voie de fermentation des acides mixtes (**Mozzi et al.,2010**).
- **Hétérofermentaires:** Ce groupe de bactéries lactiques utilise la voie des pentoses phosphate (ou 6- phosphogluconate) qui consiste à une déshydrogénation du glucose, après sa phosphorylation, pour donner le 6-phosphogluconate qui subira une décarboxylation. Le pentose résultant est clivé en glycéraldéhyde phosphate (GAP) qui suit la voie de la

glycolyse donnant l'acide lactique et l'acétyl phosphate qui sera réduit en éthanol. En raison de la production de CO<sub>2</sub>, d'éthanol ou de l'acétate en plus de l'acide lactique, cette fermentation est appelée hétéro-lactique (Salminen *et al.*, 2004).

ATP : adénosine triphosphate; ADP : adénosine diphosphate.; NAD<sup>+</sup>/ NADH, H<sup>+</sup> : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide; Pi : phosphate inorganique à mettre en liste d'abréviation



**Figure 01: Schéma des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques d'après (Drider,2009).**

## **I.2. Classification des principaux genres des bactéries lactiques:**

La classification des bactéries lactiques est basé sur les propriétés phénotypiques et physiologique : la morphologie, et la fermentation des différents hydrates de carbone, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit (**DeRoissart et al., 1994; Holzapfel et al., 2001**). Actuellement, les bactéries lactiques regroupent treize genres bactériens différent: *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Bifidobacterium* (**Ercolini et al., 2001 ; Holzapfel et al., 2001 ; Stiles et al., 1997**).

### **I.2.1. Le genre *Lactobacillus* sp:**

*Lactobacillus* sp est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, ils ont des aspects variés allant du bacille long et fins souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, qui se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les Lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexe en acide aminé, en vitamines, en acide gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (**Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994**). Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages (*Lb. casei* subsp. *casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. brevis*), dans les laits fermentés (*Lb. kefir*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb. brevis*, *Lb. Curvatus*, *Lb. buchneri* et *Lb. sanfrancisco*) (**Demazeaud , 1996**).

### **I.2.2. Le genre *Lactococcus* sp:**

**Schleifer et ses collaborateurs (1985)**; ont classé ce genre en fonction des critères physiologiques et du séquençage d'ARNr 16S (**Schleifer et al., 1985; Collins et al., 1989**). Le genre *Lactococcus* comprend 5 espèces: *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus piscium*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus plantarum* et *Lactococcus lactis*. Les espèces de *Lactococcus* sont des coques, à Gram positif au métabolisme homofermentaire produisant exclusivement de l'acide lactique. Elles ont un optimum de croissance voisin de 30°C et ne poussent pas à pH 9.6 ou en présence de 6.5 % de NaCl., elles ne sont pas hémolytiques. (**Kusuda et al., 1991; Teixeira et al., 1996**),

### **I.2.3. Le genre *Leuconostoc* sp:**

C'est un genre bactérien exigeant et auxotrophes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (Dellaglio *et al.*, 1994). Les espèces du genre *Leuconostoc* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes (en particulier la betterave), des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries. Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. (Dellaglio *et al.*, 1994).

### **I.2.4. Le genre *Streptococcus* sp:**

Ce genre bactérien englobe l'espèce *thermophile Streptococcus thermophilus* qui se différencie des autres streptocoques par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène ; ainsi que ses propriétés technologiques, et c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique. Elle immobile, sphérique ou ovoïde avec un diamètre inférieur à 2µm et une disposition en paire ou en chaîne longue. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique, et la température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à pH : 9,6. (Laurent *et al.*, 1998).

### **I.2.5. Le genre *Pediococcus* sp:**

Rassemble des coques homofermentaires dont la particularité qui les différencie des autres genres est le regroupement en paires ou en tétrades. Les espèces du genre *Pediococcus* sont mésophiles, très exigeantes, ont une faible activité protéolytique et le plus souvent sont incapables d'utiliser le lactose, ce qui ne leur permet pas d'acidifier et de coaguler le lait. Leur fermentation homolactique donne parfois de l'acide lactique racémique (acide D. L.- lactique) Mais, fréquemment la forme lévogyre L prédomine : les espèces *osmophiles* non acidophiles ne donnent que cette forme. (Guiraud., 1998).

### **I.2.6. Le genre *Enterococcus*:**

Ils sont très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminant et surtout comme agents de fermentation homolactique (avec production d'acide lactique de type dextrogyre). Ils sont très exigeants sur le plan nutritionnel et se développent bien à 37 °C. Les

*Enterococcus* composés de streptocoques fécaux (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*). (Bekhouché, 2006).

Les *entérocoques* sont des coques qui peuvent être mobile, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamimeet *al.*, 2002).

### **I.2.7. Le genre *Bifidobacterium*:**

Les cellules de *Bifidobacterium se* caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et Y. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par la présence d'une enzyme, la fructose-6- phosphate phosphocétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique, ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C. Elles se développent à pH supérieur à 5. (Laurent., 1998).

### **I.3. Intérêt des bactéries lactiques:**

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique.

#### **I.3.1. Dans le domaine alimentaire :**

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem *et al.*, 2008). L'acidification provoque la formation d'un caillé +ou- ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchées est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée ; l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides. (Satura *et al.*, 1998). Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, Capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (Marth *et al.*, 2001). Par ailleurs, les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques par la production de certains métabolites comme l'acide lactique et la production de bactériocine peptides antimicrobiens synthétisés par un très grand nombre de

souches de bactéries lactique, ils sont généralement thermorésistants et d'autres métabolites tels que le diacétyle et l'acétaldéhyde, qui sont responsables des caractéristiques organoleptiques(Boudjemaa ., 2008).

### **I.3.2. Dans le domaine thérapeutique :**

Différents bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (**Yateem et al., 2008**). En effet plusieurs études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (**Mkrtchyanet al., 2010**). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**El-Ghaish et al.,2011**). Certains souches comme *Lactobacillus CRISPATUS* ont été utilisées sous forme d'ovule pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie (**Uehara et al., 2006**).

### **I.4. Le potentiel antioxydant des bactéries lactiques:**

La capacité antioxydante des bactérie lactique, leur permet de protéger les cellules intestinales en réduisant les dommages potentiels des ROS et aident à maintenir l'homéostasie redox (**Zhang et al., 2012**). En effet , différentes capacités anti-oxydantes des espèces de lactobacilles pour modifier le profil bactérien et prévenir le stress oxydatif dans le côlon de souris surchargées en Fe ont été étudiées. Le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle inhibent la croissance de certaines bactéries nuisibles mais ont un effet oxydant néfaste en santé humaine . **Mishra et al., ( 2015)** ont montré que le temps de survie de la souche de *L. rhamnosus GG* était significativement plus long en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de radical hydroxyle par rapport aux souches non antioxydantes, *L.paracasei Fn032* et *plantarum Fn001*, respectivement. De plus, *L. paracasei Fn032* et *L.plantarum Fn001* étaient spécifiques des activités d'élimination des radicaux libres de leurs extraits libres intracellulaires. (**Mishra et al., 2015**) .De nombreuses recherches se concentrent sur l'investigation de nouvelles molécules et substances pour aider l'organisme à lutter contre le stress oxydatif; parmi eux l'utilisation de bactéries lactiques et les espèces de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus sp* et *Lactococcus lactis* et certaines espèces d'*Enterococcus sp* sont les bactéries les plus couramment utilisées. (**Idoui et al., 2016; Jäger et al., 2016**)

## II. Stress Oxydatif Et Activité Anti Oxydante

### II.1. Les Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules à base d'oxygène ou d'azote. Ils sont créés à la suite d'une réaction d'oxydation normale. Lorsqu'un radical libre interagit avec une autre molécule, un nouveau radical libre est créé. Les réactions d'oxydation ont souvent lieu à l'intérieur de la membrane cellulaire ou dans les régions avoisinantes et peuvent endommager les parois intérieures des cellules. Certains radicaux libres ciblent les mitochondries à l'intérieur des cellules et entravent leur capacité à produire de l'énergie. D'autres radicaux libres ciblent l'ADN (**Bechan et al., 2014**). Le paradoxe des radicaux libres c'est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie (**Favier, 2003**).

#### II.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène(ERO):

les ERO sont des molécules contenant de l'oxygène mais dont la réactivité est bien supérieure à celle de la molécule d'O<sub>2</sub>. Ces ERO comprennent des radicaux tels l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ou le radical hydroxyle (HO) et les espèces non radicalaires telles le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), l'oxygène singulet (1O<sub>2</sub>) (**Garrel et al., 2007**).

Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant faible et peut être réactif en absence des métaux de transition (**Nzengue, 2008**). Cependant, en présence du cuivre cuivreux ou du fer ferreux, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut se décomposer en HO<sup>-</sup> et HO selon la réaction de fenton. Le radical HO a une vitesse de réaction très grande avec la majorité des molécules, si bien qu'il réagit à l'endroit même où le métal catalyse sa formation, (**Nzengue, 2008 ; Hamadi, 2010**).

Les ERO remplissent en effet de très nombreuses fonctions ; si la production des ERO est relativement modérée, ils peuvent jouer un rôle de messager intra et/ou extracellulaire (**Favier, 2003**). Ils sont ainsi impliqués dans les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée), dans la prolifération des cellules musculaires lisses (cellules vasculaires), dans l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales, ou bien encore dans l'agrégation plaquettaire (**Gardès et al., 2003**), et permettent aussi l'expression de gènes de défense (**Favier, 2003**). Ils sont aussi capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction

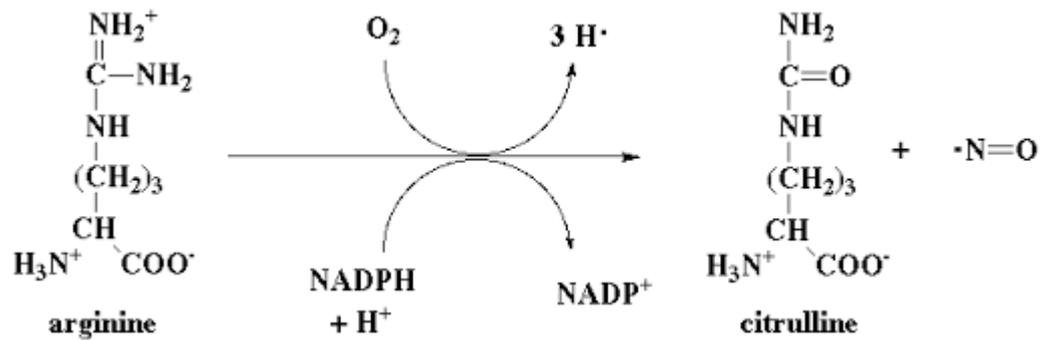
protéique. Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant la signalisation cellulaire (Koechlin, 2006), les principales espèces réactives de l'oxygène selon (Garrel et al., 2007), (tableau 01).

**Tableau 01** :les principales espèces réactives de l'oxygène(Garrel et al.,2007).

Espèces réactives	Réaction de formation	Propriétés
<b>L'Anion Superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-•</sup>)</b>	Formé par la réduction mono électrique de l'oxygène: addition d'un seul électron $O_2 + 1 e^- \longrightarrow O_2^{\cdot-}$	C'est le radical le moins réactif mais le précurseur des autres ERO [Koechlin-Ramonatxo. C, 2006].
<b>Le Peroxyde d'Hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	Produit à partir de l'anion superoxyde, réaction catalysé par la <i>superoxyde dismutase</i> . [Raccach. D. 2004]. $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} \xrightarrow[SOD, 2 H^+]{\quad} H_2O_2 + O_2$	La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle (OH <sup>•</sup> ) [Gardès-Albert. M et al, 2003].
<b>Le Radical Hydroxyle (OH<sup>•</sup>)</b>	formé par la réaction de <i>Fenton</i> à partir d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en présence de métaux de transition: L'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène [Goudable. J et al, 1997]. $H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow \cdot OH + Fe^{3+} + \cdot OH$	Le radical hydroxyle (°OH) est le radical le plus avide d'électron et le plus dangereux pour l'organisme [Gardès-Albert M, 2003].
<b>Le Monoxyde d'Azote (NO)</b>	Le NO est formé à partir de l'un des deux atomes d'azote terminal du groupement guanidine de la L-arginine, d'une part, et de l'oxygène moléculaire (O <sub>2</sub> ) d'autre part en présence de cofacteur: NADH,H <sup>+</sup> , réaction catalysé par les NO synthase (Nos) [Sabry. S et al, 1996].	Le NO est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques (agit sur le tonus vasculaire) [Barouki. R, 2006].
<b>Le Peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>)</b>	En l'absence d'une quantité suffisante de cofacteurs ou de substrat (arginine), les NOS produisent de l'anion superoxyde (O <sub>2</sub> <sup>-•</sup> ) plutôt que du NO <sup>•</sup> . L'O <sub>2</sub> <sup>-•</sup> produit lie le NO <sup>•</sup> pour former du <i>Peroxynitrite</i> [Massion. P et al, 2002]	Très réactif et sans doute responsable d'un stress oxydant, Il engendre des oxydations irréversibles et des nitrations diverses (surtouts des résidus tyrosines) [Massion. P et al, 2002]

## II.1.2. Les espèces réactives azotées (ERN)

Les espèces réactives de l'azote chez les mammifères proviennent du monoxyde d'azote et du nitrite. Le Monoxyde d'azote (NO) (Figure 02) est appelé oxidonitrogen(•) dans la nomenclature systématique la plus complète des espèces réactives dérivées de l'azote (Koppenol ,1996b ; Koppenol ,2002) C'est un gaz paramagnétique non chargé et lipophile qui est faiblement soluble dans l'eau lorsque la force ionique I augmente (Koppenol, 1998a).



**Figure 2 : Mécanisme de la biosynthèse de NO par la NO-synthase à partir de L-arginine.**

Les donneurs de NO Bien avant la découverte du rôle de NO dans le système cardiovasculaire, on utilisait des nitrates organiques R-ONO<sub>2</sub> (nitroglycérine...) de façon empirique pour traiter l'angine de poitrine. Leur mécanisme d'action fait encore l'objet de nombreuses recherches, mais l'opinion communément admise est que ces composés exercent leur action vaso-relaxante par la libération de monoxyde d'azote in vivo lors de la métabolisation par l'aldéhyde déshydrogénase (Chen ,2002).

La réactivité de NO a fait l'objet de revues (Koppenol, 1998a). NO agit aussi comme agent de terminaison des réactions en chaînes de peroxydation lipidique, et exerce ainsi une action antioxydante (Hiramoto, 2003). Sa réactivité avec les molécules organiques a rarement été citée. À haute pression et en milieu non aqueux, la réaction de NO avec les nucléophiles donne des adduits avec la fonction [N(O)NO]<sup>-</sup> (diazéniumdiolates à partir d'amidures) (Keefer ,1996). La formation de 3-nitrosoindoles et de 3 3'-azo-bis-indoles par réaction de NO sur les indoles 1 2-disubstitués a été récemment décrite dans le dichlorométhane et en anaérobie avec un intermédiaire de type diazéniumdiolate (Astolfi, 2003).

Le NO intervient dans le système immunitaire. Il est libéré en grandes quantités par les macrophages (les cellules immunitaires qui combattent les infections et les tumeurs) lors de certaines réactions immunologiques ou de défense contre les micro-organismes ; il est impliqué dans la physiopathologie du choc septique, du trauma, de l'ischémie-reperfusion et de l'inflammation (Grisham ,1998 ; Dedon ,2004). Il régule l'expression de nombreux gènes directement en modulant l'activité des facteurs de transcription, mais aussi en agissant sur les cascades de signalisation en amont, en modifiant la stabilité des ARN messagers et leur traduction et même en influençant la maturation des produits primaires des gènes (Bogdan, 2001). Aussi le NO joue un rôle complexe dans l'apoptose, la prolifération cellulaire et le

développement. Il a été clairement établi que de faibles concentrations de NO peuvent empêcher l'apoptose et stimuler la prolifération cellulaire, tandis qu'une production accrue de NO peut activer le processus de mort programmée de la cellule. L'effet protecteur de NO passe entre autres par l'inhibition de l'activation des caspases, une famille de protéases impliquées dans les mécanismes de l'apoptose (Kim, 1997). Il régule l'homéostasie du fer par l'activation ou l'inhibition de l'activité et de l'expression de plusieurs protéines impliquées dans son métabolisme (hème oxygénase, IRP...) (Wink, 1998).

## **II.2. Définition du stress oxydatif:**

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels. Plusieurs facteurs influencent le stress oxydatif, certains augmentant la production des ERO comme la consommation élevée d'O<sub>2</sub> au cours d'une activité sportive intense consommatrice d'énergie, d'autres réduisent les capacités anti oxydantes tels que le déficit enzymatique congénital en G6PD. En effet, l'oxygène est à l'origine du processus de vieillissement cellulaire et en 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant : le superoxyde dismutase (SOD) qui élimine le radical libre anion superoxyde produit par réduction univalente de l'oxygène. Cette découverte fondamentale montre indirectement que des radicaux libres sont produits dans notre organisme. (Defraigne et al., 2008).

En fin, Les radicaux O<sub>2</sub><sup>-°</sup> et OH<sup>-°</sup> provoquent des lésions de l'ADN. Ceux-ci peuvent interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques (Therond, 2006). Les produits secondaires de la peroxydation des acides gras polyinsaturés tel que le MDA (aldéhydes mutagènes) peuvent interagir avec l'ADN et former des adduits (Favier., 2003). Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas réparées entraînent à long terme des altérations géniques (Koechlin, 2006).

## **II. 3. Le pouvoir antioxydant:**

Les antioxydants sont définis comme l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement à faibles doses la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO (Favier, 2003). Les systèmes antioxydants peuvent être divisés en deux catégories : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques :

**II.3.1. Les Antioxydants de nature enzymatique:** Il s'agit des enzymes suivantes;

**II.3.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD) :** Les SOD sont des métalloprotéines (Ghisolfi et al., 2006), qui permettent l'élimination des anions superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) ou tout au moins de les maintenir à un niveau de concentration assez bas, par dismutation en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et en une molécule d'oxygène ( $O_2$ ) (Figure03);(Gardès, 2003)



**Figure 03 :**La réaction de la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$  en  $H_2O_2$  (Gardès-Albert., 2003)

**II.3.1.2. La glutathion peroxydase (GSHPx) :**La GSHPx est localisée dans les milieux extracellulaires, le cytosol et les mitochondries (Ghisolfi, 2006). Ces enzymes réduisent le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Figure 04); (Goudable et al., 1997)



**Figure 04 :** Le glutathion (GSH) intervient comme co-facteur dans la GSHPx peroxydase(Goudable et al., 1997)

**II.3.1.3. La Catalase (CAT) :** La catalase est une enzyme qui contient du fer. Elle est concentrée dans le foie et les érythrocytes (Tessier et al., 1995). Elle réduit le peroxyde d'hydrogène en libérant de l'oxygène et de l'eau et leurs rôles est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Goudable et al., 1997).

### **II.3.2. Les Antioxydants non enzymatiques:**

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des molécules qui sont apportés par l'alimentation (exogènes) et autres molécules dont dispose l'organisme (endogènes). Parmi les antioxydants apportés par l'alimentation on retrouve la vitamine E, une substance liposoluble antioxydant majeure qui agit par rupture de la réaction en chaîne (peroxydation

lipidique) au niveau des membranes cellulaires (Tessier *et al.*, 1995; Lecerf *et al.*, 1994). D'autres vitamines jouent un rôle d'agents réducteurs : la vitamine C ainsi que Le  $\beta$  Carotène précurseur de la vitamine A et qui à les mêmes fonctions que la vitamine E (Pincemail *et al.*, 2002; Lecerf *et al.*, 1994). On ce qui concerne les antioxydants endogènes on retrouve le glutathion qui est un tri peptide et qui possède une fonction thiol qui lui confère un rôle d'antioxydant qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydantes (Gardes, 2003). Le fer et le cuivre sous forme libre étant promoteurs de dommages radicalaires, ces métaux sont séquestrés et transportés grâce à des protéines comme la ferritine, la transférine ou la céruloplasmine (Fontaine, 2007). L'albumine aussi joue un rôle d'antioxydant grâce à sa cystéine en position 34 qui permet de capturer les ERO (Mira, 2008). L'acide urique est aussi connu pour être un antioxydant (Izzedine *et al.*, 2011).

Il existe d'autre composés d'origine végétale sont dotés d'activité antioxydante et sont très étudié, tels que Les composés phénoliques (Balasundram *et al.*, 2006); Les flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008 ); Les tanins (Derbel *et al.*, 2005 ); Les caroténoïdes (Haleng *et al.*, 2007) .

#### **II.4. Méthodes de détermination de l'activité anti-oxydante :**

L'activité anti-oxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres;

**II.4.1. Evaluation par la méthode du DPPH :** L'DPPH est le 2,2- diphenyl- 1- picryl- hydrazyl- hydrate, est un radical organique de nitrogène, qui possède un électron non apparié sur un atome d'azote. Ce dernier a la possibilité d'être délocalisé pour rendre ce radical stable, ce qui explique la diminution visuelle de sa coloration pourpre lors de la réaction avec un antioxydant (Kouassi, 2017).

**II.4.2. La résistance au peroxyde d'hydrogène :** Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant relativement faible, mais il est hautement diffusif et a une longue durée de vie. A cause de ces caractéristiques de base, le peroxyde d'hydrogène contribue aux dommages oxydatifs soit directement ou comme un précurseur de radicaux hydroxyles (Zhang *et al.*, 2011).

**II.4.3. La capacité de piéger les radicaux hydroxyles:** Le radical hydroxyle est le ROS le plus réactif et le plus toxique, a une courte durée de vie, et est un oxydant puissant qui peut réagir de manière non spécifique avec l'ADN et les protéines et intervient dans la peroxydation lipidique Ce radical peut provenir soit de la réaction entre  $O_2^-$  et le  $H_2O_2$ , ou de la réaction de Fenton (Desmier, 2016).

**II.4.4. La capacité de chélation des ions de fer:** Le contrôle du Fer dans le domaine de l'évaluation de l'activité anti-oxydante est important parce que le fer participe à la génération des radicaux hydroxyles. Le fer et en particulier le fer ferreux provoque des dommages tissulaires en catalysant la formation des ROS et stimule la peroxydation lipidique, et en conséquence la chélation du fer est une activité antioxydante très efficace pour la prévention de la peroxydation lipidique (**Kim et al., 2005**).

***Partie II:***  
***Matériels et Méthodes***

## Partie II : matériels et méthodes

Dans cette partie l'effet anti oxydant de 08 souches lactiques est exploré, parmi ces souches, six lactobacilles isolées du lait de vache et identifiées par notre encadreur dans le cadre de sa recherche en Doctorat. La partie expérimentale de cette étude a été réalisé au niveau de deux laboratoires, le Laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) et les mesures du spectrophotomètre ont été réalisé au laboratoire pédagogique N°3 de microbiologie de la faculté SNV de l'université de Mostaganem.

### 1. Matériels

**1.1. Origine des bactéries lactiques:** Huit souches lactiques ont servie pour l'exploration de leur activité antioxydante. Les différentes souches utilisées sont représentée dans le tableau suivant (**Tableau02**):

**Tableau 02: Les différentes souches utilisées dans les tests étudiées**

Bactéries lactiques	Origine/Affiliation
Souche 05	Lait de vache/ Laboratoire LMBAFS
Souche 09	Lait de vache/Laboratoire LMBAFS
Souche 10	Lait de vache/Laboratoire LMBAFS
Souche 11	Lait de vache/Laboratoire LMBAFS
Souche BB12	Laboratoire LMBAFS
Souche14	Lait de vache/Laboratoire LMBAFS
Souche 15	Lait de vache/Laboratoire LMBAFS
Souche Lbe	Laboratoire LMBAFS

### 1.2. Milieux de cultures et réactifs:

- **Milieu MRS** (Man, Rogosa, Sharp) bouillon: utilisé pour Favoriser la culture des bactéries lactiques du Genre *Lactobacillus* spp (**De Manne et al., 1960**)

**1.3. Les solutions utilisées :** PBS: tampon phosphate; TCA: Acide trichloracétique solution de Sulfate Ferreux FeSo4; Acide Barbiturique ; solution de Dpvh; Méthanol; Eau distillé

### 1.4.Appareillage:

Spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (JENWAY 7305 UV/VIS), Chambre D'observation UV « 264/3645 nm »(VILBERCOURMAT), Bain Marie (KOTTERMANN),

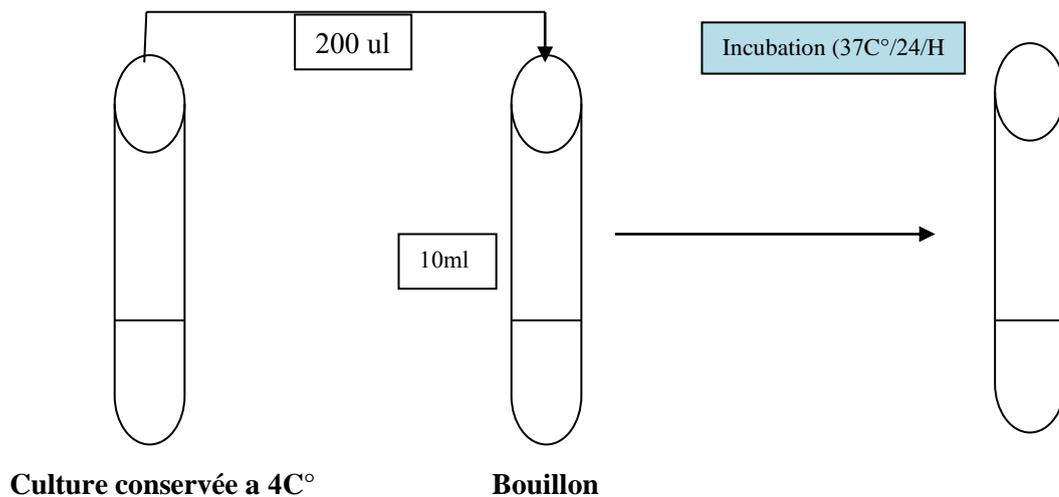
Etuve universelle de 5 à 220°C, Agitateur magnétique (VELP scientifica), vortex (Stuart), Balance (KERN) Max 421g d= 0,01g, Balance (KERN) Max 6100g d= 0,1g PH mètre (WTW Ph 330), Micro pipette (Smart) « 100 -1000 µl », Micro pipette (Unique) « 10 – 50 µL », Centrifugeuse (ROTOFIX 32 A), des Eppendorfs .

## 2. Méthodes:

**2,1. Réactivation des souches:** Les souches lactiques étaient conservées à -20°C dans des Eppendorfs. La réactivation des souches lactiques se fait par repiquage successif en bouillon MRS avant d'être ensemencé en gélose par méthode de stries pour l'obtention de colonies bien isolées maintenue conservées à 4°C. L'incubation était à 37°C pendant 24 h pour chaque culture.

### 2,2. Préparation de l'inoculum

72 heures avant de commencer chaque expérience, les cultures sont revivifiées par une série de trois inoculations de 200 microlitres dans 10 ml de MRS bouillon et incubées à 37°C pendant 24h dans une jarre d'anaérobiose avec système générateur de CO<sub>2</sub> (**figure 5**)



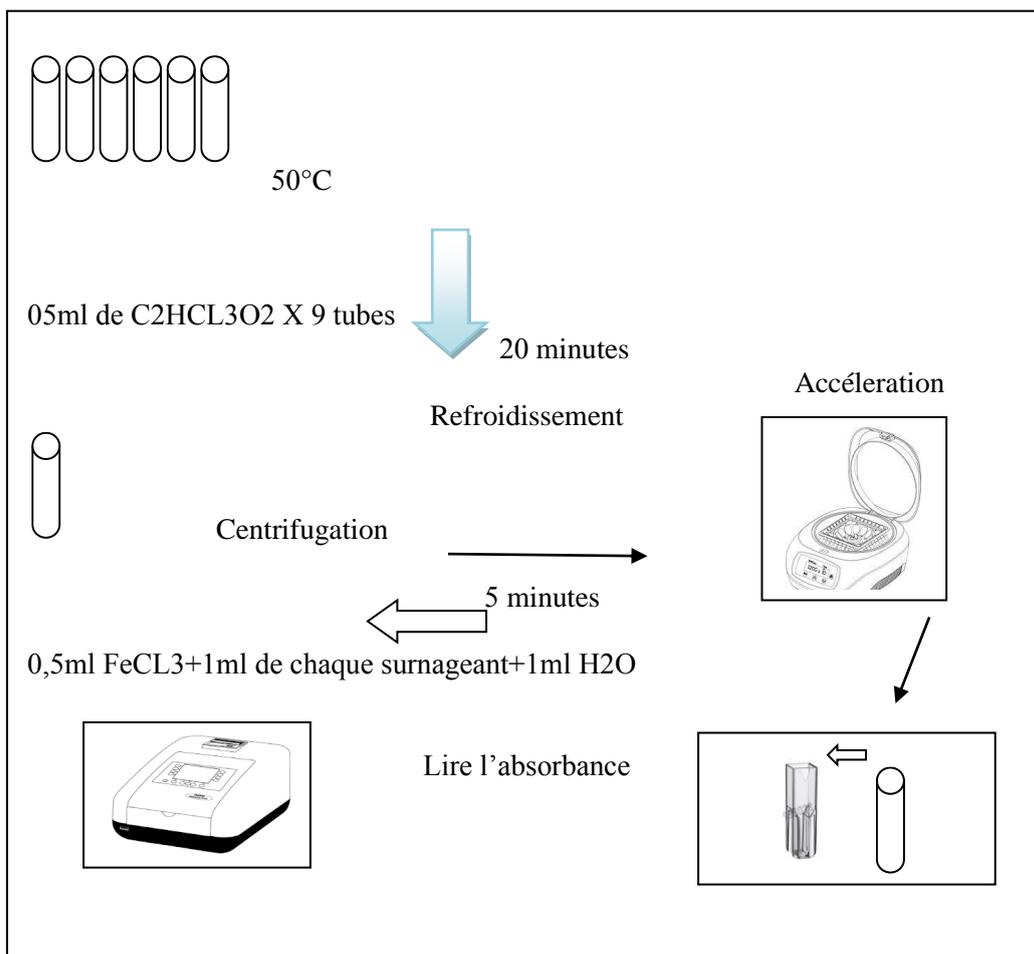
**Figure 05:** Représentation schématique de la réactivation des souches lactiques.

### 2,3. Pouvoir réducteur des bactéries:

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) du complexe ferricyanure en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). La forme réduite se traduit par une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur (Chung et al., 2006). Le protocole de (Bae et al., 2010) a été adapté pour la mise en évidence du pouvoir réducteur des souches lactiques. Après lavage des cultures au PBS, 0,5 ml de chaque culture est mise dans un tube stérile + 0,5ml de PBS à pH (6,6) + 0,5 ml de ferrocyanure de potassium préparé à 1%. Les tubes sont mis au bain marie à  $50^{\circ}C$  pendant 20 minutes. Ensuite (volume = 0,5 TCA ) d'acide trichloracétique a 10% sont ajoutés après refroidissement des tubes. Après Centrifugation à 3000 rpm pendant 5mn, 1ml de chaque surnageant est mélangé avec 1ml d'eau distillée + 0,2 ml trichlorure de fer à 0,1%; après réaction pendant 10 min, l'absorbance est mesuré a 595 nm. Le pouvoir réducteur a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Le pouvoir réducteur (\%)} = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

As : L'absorbance de l'échantillon. Ac : l'absorbance du contrôle .



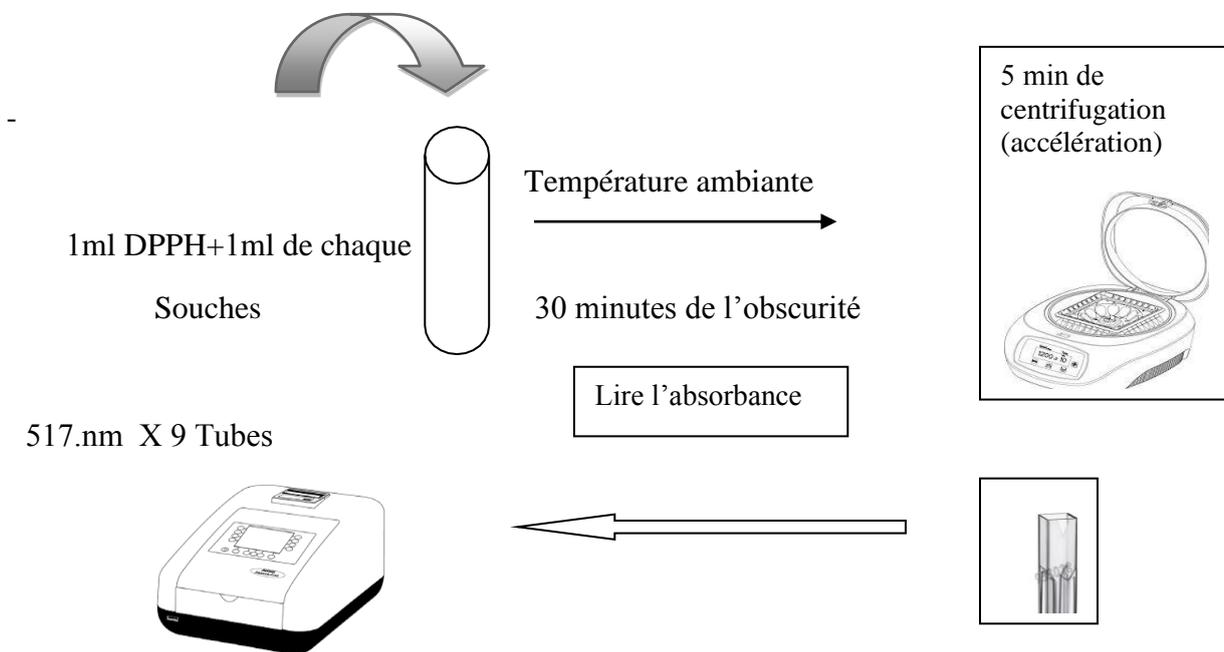
**Figure06** : Test du pouvoir réducteur des bactéries adapté par (Bae et al., 2010)

#### 2,4. Activité de Piégeage des radicaux libres par 2 2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH):

Le DPPH (2 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette qui réagit avec des groupements amine, les phénols et les acides. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (DPPH2) avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence de groupement picryl et l'absorbance est lue à 517 nm .

Le protocole de (Hsu et al. 2008) a été adapté pour la mise en évidence de l'activité de piégeage de DPPH sur les souches lactiques , on prend 1ml de solution DPPH (0,2mmol/l) préparée dans de l'éthanol +1ml de chaque souche bactérienne, ensuite Incuber les tubes pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. Après 10 minutes de centrifugation à 3000 rpm , l'absorbance des surnageant est mesurée à 517 nm.L'activité de piégeage du DPPH est calculé selon la formule suivante:

**[Activité de piégeage (%) = [1 - (Ai - Ak) / Aj] × 100 (Ai : l'absorbance Ak : le blanc; Aj : le control)]**



**Figure 07 :** un schéma représente les étapes du test de la capacité de piégeage des radicaux libres par le DPPH ,adapté par (Hsu et al. 2008).

#### 2,5. Activité d'anti peroxydation lipidique :

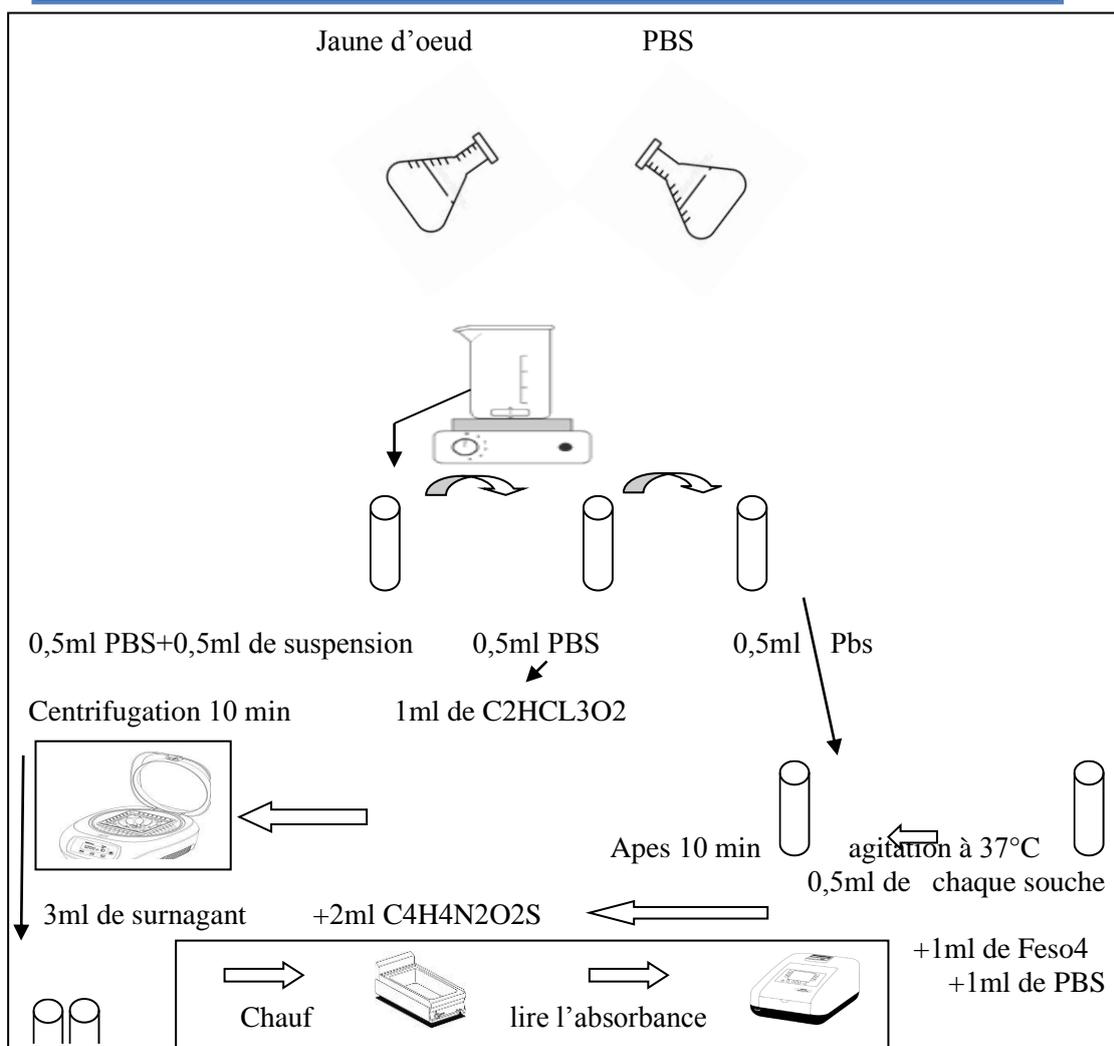
La mise en évidence de l'effet des souches bactériennes testés sur la peroxydation lipidique a

été déterminée par les pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique Selon le protocole de (Hsu *et al.*,(2008) ; un volume de jaune d'œuf frais est ajouté à un volume égale de PBS (0,2 mol / L; pH 7,4) .Après un bonne homogénéisation; diluer la suspension par le PBS (1 :25, V/V). Ensuite, mettre 0,5ml de chaque souche bactériennes + 1ml de la suspension préparé + 1ml PBS + 1ml de sulfate ferreux FeSO<sub>4</sub> (25mmol/L); bien agiter les tubes et incuber pendant 15 minutes à 37°C . Après incubation ajouter 1ml de l'acide trichloracétique (20%, P/V), laisser agir (réaction statique) pendant 10 minutes, ensuite le mélange a été centrifugé à 3000rpm pendant 10 minutes. Dans une autre séries de 9 tubes contenant 2ml de l'acide barbiturique (0,8%, poids / volume) nous avons ajouté 3ml de chaque surnageant ensuite Chauffer le mélange au bain marie 10 minutes, après le refroidissement des tubes a une température ambiante, L'absorbance (As) du mélange nm a été mesurée à 532.

Le contrôle (Ac) contenait 0,5 ml de PBS au lieu de l'échantillon.

Le taux d'inhibition de la peroxydation lipidique a été calculé selon la formule suivante

$$\text{Taux d'inhibition du peroxyde lipidique (\%)} = \frac{(Ac - As)}{Ac} \times 100$$



**Figure8** : Schéma protocolaire du test de la Peroxydation anti-lipidique adapté par Hsu *et al.*(2008)

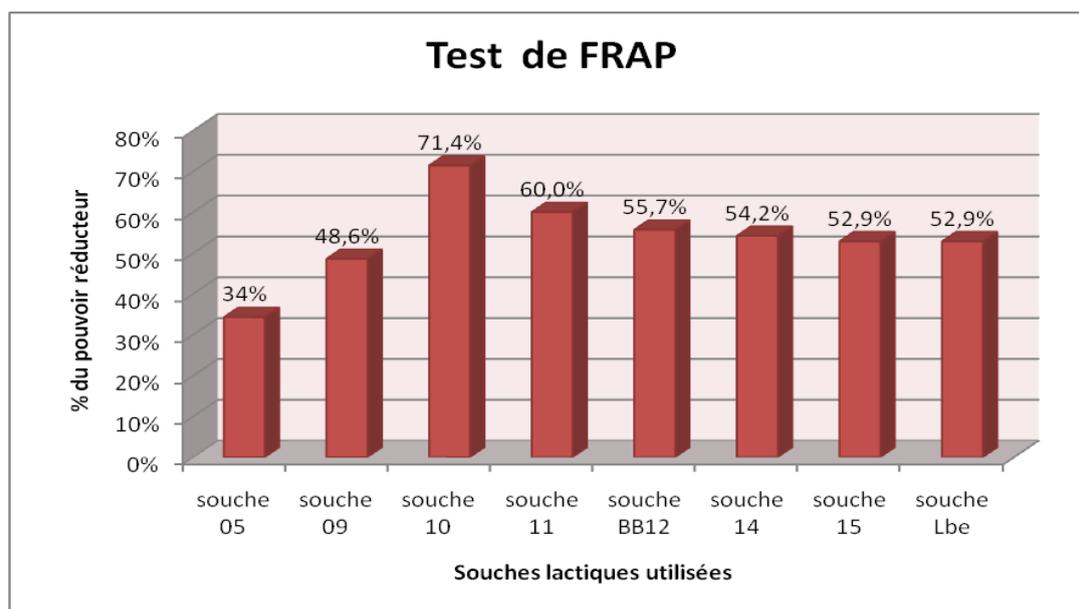
# **Partie III:**

## **Résultats et discussion**

## Partie III : Résultats et Discussions

### III. 1. Pouvoir réducteur FRAP:

Les antioxydants sont déterminés par colorimétrie . La forme du  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  est réduite en  $Fe^{2+}$  en présence de l'antioxydant .Le complexe perd sa couleur jaune pour un bleu foncé. Cette coloration mesurée à 595 nm par spectrophotomètre, est proportionnelle à la concentration en antioxydants présents dans les échantillons. La méthode est standardisée par rapport au Trolox. Le pouvoir réducteur du fer est évalué en mesurant le pourcentage de réduction (%) (**Chung et al., 2006**).Les résultats du pouvoir réducteur représentés dans **la figure.09**, et démontrent clairement un pouvoir réducteur important et variable selon la souche considérée. Les meilleurs pourcentages de réduction: 71,4%; 60%; et 55,7% ont été affichés respectivement par les souches ( 10; 11 et BB 12), en deuxième position viennent les souches (14; 15 et LBe) avec des pourcentages supérieur à 50%,et au finale les minimales restent entre 34% et 48% pour les souches 05 et 09. les résultats sont remarquables ce qui traduit que les souches étudiées possèdent un très bon potentiel réducteur. Ces résultats se rapprochent de l'étude de **Zhang ,(2017)** qui a mis en évidence l'activité anti-oxydante chez certaines bactéries lactiques, et à pu démontrer que les souches; *L. curvatus SR6* et *L. paracasei SR10-1* ont un pouvoir réducteur avec les pourcentage de 47,31% et 44,24% respectivement.(**Zhang ,2007a**).Aussi , différentes capacités anti-oxydantes des espèces de lactobacilles pour modifier le profil bactérien et prévenir le stress oxydatif dans le côlon de souris surchargées en Fe ont été étudiées(**Mishra et al.,2015 ; Zhang et Li., 2012**).

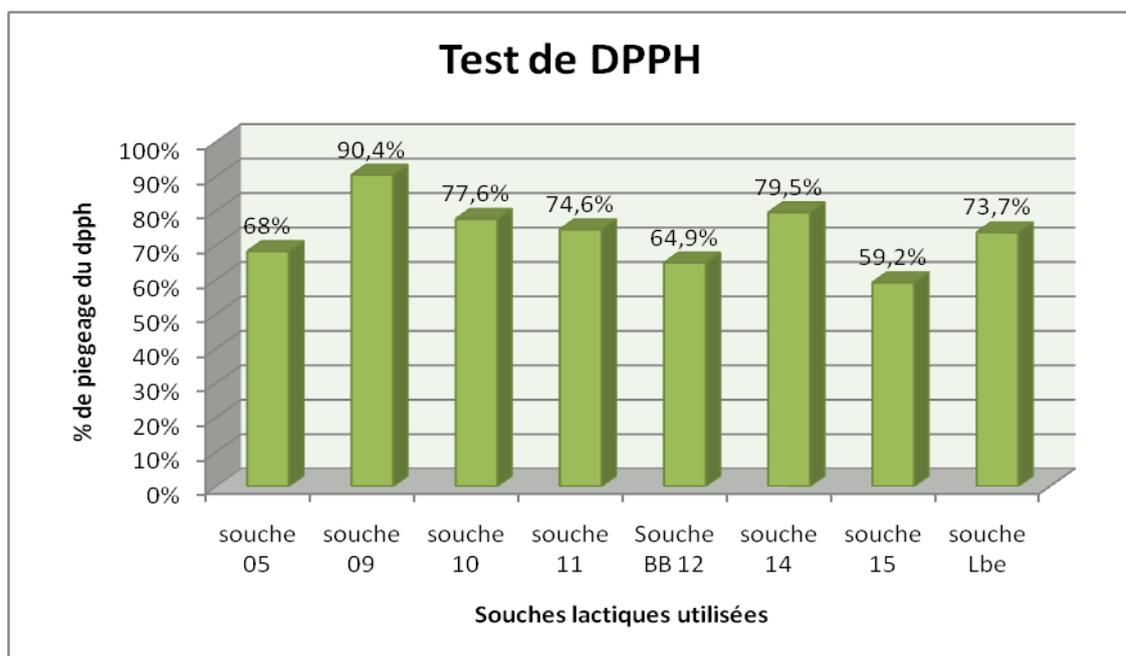


**Figure09 : Résultats du pouvoir de réduction des ions  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  en (%) par les souches lactiques**

### III.2. Piégeage du radical libre le DPPH:

Le DPPH est un radical libre stable avec une absorbance maximale à 517 nm dans l'éthanol lorsque le dpph rencontre une substance donneuse de protons telle antioxydant, le radical est récupéré et l'absorbance est réduite (yang *et al.*, 2008).

Les résultats illustrés dans la **figure.10** déterminent aussi une capacité de piégeage des radicaux libres très importante, chez toutes les souches lactiques étudiées, Le taux le plus haut est enregistré par la souche 09 avec 90 4% et le dernier taux est représenté par la souche 15 avec 59 2 % ce qui prouve encore une fois que les résultats de la capacité de piégeage du DPPH par nos souches sont très considérables en comparaison aux deux souches BB12 et LBE. Ces résultats sont comparables à plusieurs recherches selon la bibliographie. nos résultats se rapprochent de ceux de (Benyoucef , (2018) qui a signalé que *Lactobacillus paracasei* a affiché un taux de 69 94% d'inhibition de DPPH. Lin *et al.*,(2000) ont découvert que *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus acidophilus* avaient une capacité de piéger les radicaux libres DPPH à 43 2% et 52 1% respectivement. Aussi ,(Maryam *et al.*,(2012), ont prouvé que *L.plantarum* isolé à partir d'échantillon de fruits présentait la plus forte activité d'inhibition du dpph avec un pourcentage de 50 8%; Enfin , nos résultats sont beaucoup plus supérieurs à ceux de Osuntoki *et al.*, (2010), qui ont rapporté que des bactéries lactiques isolées d'aliments fermentés africains ont affiché entre 6 3 et 33 7 % d'activité d'inhibition du DPPH.

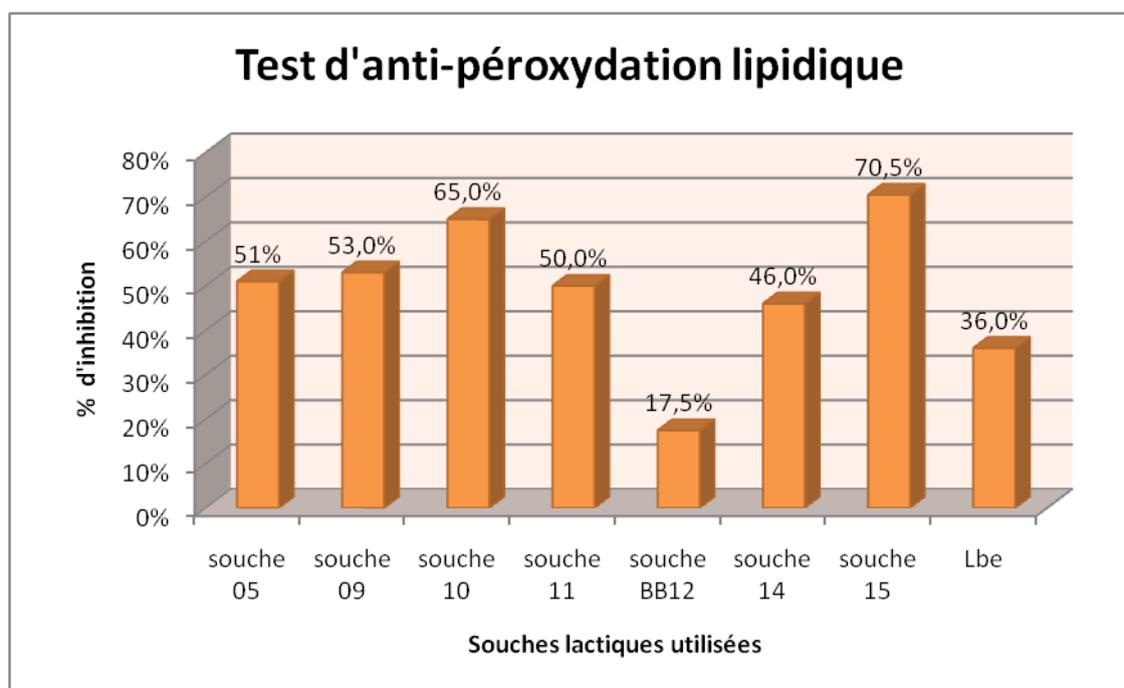


**Figure 10: Résultats de la capacité de piégeage du DPPH (%) par les souches lactiques**

### III.3. L'activité d'anti-Peroxydation Lipidique:

La mise en évidence de l'effet des souches bactériennes testés sur la peroxydation lipidique a été déterminée par les pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique (Hsu et al,2008).Les résultats de l'anti-péroxydation lipidique obtenus sont illustrés dans la figure11 , il est claire que toutes les souches sont doté de cette activité avec des pourcentage important allant jusqu'a 70 5% affiché par la souche 15 suivie des souches 10 09 05 et 11 avec des taux moyen: 65%, 53%, 51% et 46 0% , respectivement et les taux les plus bas sont obtenu par les souche Lbe et BB12 avec 36% et 17 5% respectivement mais qui restent considérables.

En effet ces résultats se rapprochent de plusieurs études précédentes qui ont démontré l'effet anti oxydant des bactéries lactiques, à savoir l'effet d'anti peroxydation; comme ,Lin et al. (2000) qui ont démontré les effets de *B. longum* et *L. acidophilus* sur l'inhibition de la peroxydation des lipides plasmatiques et ont obtenus respectivement 16,2 % et 11,3 % . Par ailleurs, Zhang et al. (2011), ont signalé que Les cellules intactes de  $10^9$  cellules de *SY13 L. casei subsp. casei* et  $10^8$  cellules de *LJJ L. delbrueckii subsp* ont démontré respectivement 62 95 et 59 63% d' inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique. En fin, Les résultats obtenus par Zhang et al. (2017) réalisé sur la peroxydation lipidique des souches *L. paracasei* SR10-1 et *L. curvatus* SR6 ont apporté que L'inhibition de la peroxydation lipidique de *L. paracasei* SR10-1 ( $63 89\% \pm 0 93\%$ ) était significativement plus élevée que celles de *L. curvatus* SR6 ( $55 00\% \pm 5 19\%$ ).



**Figure11: Résultats d'activité d'anti peroxydation lipidique en (%) des souches lactiques**

## **Conclusion :**

L'étude du pouvoir antioxydant des huit souches lactiques a été effectuée en mesurant le pouvoir réducteur du fer par la technique de FRAP, le piégeage des radicaux libre par la technique de DPPH et l'inhibition de la peroxydation lipidique. Les résultats obtenus sont très satisfaisants car toutes les souches étudiées ont affiché un pouvoir anti oxydant très prononcé dans les trois méthodes étudiés. Cette capacité antioxydante de ces bactéries peut s'expliquer par les principaux mécanismes de résistance aux ERO, à savoir; la capacité de chélation des ions métalliques comme il a été signalé que la capacité antioxydante de *L.casei* KCTC 3260 réside dans le fait qu'elle chélate fortement les ions Fe<sup>+2</sup> ou Cu<sup>+2</sup>, bien qu'aucune activité SOD détectable n'ait été observée. (Wang et al., 2017). Par ailleurs, Certains probiotique sont également leurs propres systèmes enzymatiques antioxydants et les inhibiteurs non enzymatiques ;qui sont responsables de la lutte contre le stress des ERO. (Wang et al. ,2017). De même, certaines bactéries probiotiques peuvent produire divers métabolites ayant une activité antioxydante, tels que le glutathion (GSH), le folate et le butyrate (Endo et al., 2013).

La régulation du microbiote intestinal présentent un enjeux antioxydant car les probiotiques sont des habitants réguliers du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux ; ils peuvent réguler la composition du microbiote intestinal et inhiber la prolifération excessive de bactéries nocives, ce qui peut contribuer à diminuer le stress oxydatif. *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, les espèces probiotiques les plus courantes ,produisant de l'acide lactique, de l'acide acétique et de l'acide propionique, peuvent abaisser le pH intestinal et inhiber la croissance de diverses bactéries pathogènes afin de maintenir l'équilibre de la flore intestinale. (Wang et al. ,2017). Au finale, Les exopolysacharides des bactéries lactiques , connus par leur grande importance dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique ont également un rôle essentiel en tant qu'antioxydant puissants, comme l'a rapporté l'étude de Zeraoulia et al. (2017), dont les résultats de la quantification des EPSs ont montré que *Lb.curvatus* BJ432 produisait la plus grande quantité d'EPS (34 4mg/l) et à présenté aussi la forte activité scavenger du radical DPPH (61%), (Zeraoulia et al., 2017).

Le potentiel antioxydant des bactéries lactiques est importante à la fois pour la protection contre les dommages oxydatifs dans le corps humain et serait utile dans l'industrie alimentaire; alors en perspective il serait intéressant, d'approfondir les recherches pour la compréhension des différents mécanismes antioxydants chez ces souches et étudier leur utilisation possible en santé humaine par des essais in vivo sur les animaux afin de confirmer la capacité réductrice de ces souche

## **Référence Bibliographiques :**

**Astolfi,J,P . (2003).(Dir).** (Educations et formation : nouvelles questions, nouveaux métiers. Paris : ESF, pp.129-151

**Badis. A ., Laouabdia-Sellami.N ., Guetarni- Ouzrout,R. (2005).**

Carcterisation phénotypiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle ». Sciences & technologie C – N° 23 pp

**Bae, J.H., Boggon, T.J., Tome, F., Mandiyan, V., Lax, I., and Schlessinger, J. (2010).** Asymmetric receptor contact is required for tyrosine autophosphorylation of fibroblast growth factor receptor in living cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, P2866–2871

**Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006),** Phenolic compounds

**Beckman, J.S., Koppenol, W.H.,( 1996).** Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. Am. J. Physiol. 271, C1424/C1437

**Bekhouche ,F. (2006).** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat. Inst. de la nutrition de l'alimentation et des technologies; Univ Constantine, pp, 24.

**Benyoucef, A.( 2018).** Étude des propriétés fonctionnels des bactéries lactiques Biotechnology for Wellness Industries, 5, 82-90.

**Boudjema, K., (2008).**Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactisérum par streptococcue thermophilus. Mémoire de magister. option

biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara – Boumerdés pp 7.

**Chen,J., Carlson, B,E ., Del Genio,A,D. (2002).** Evidence for strengthening of the tropical general circulation in the 1990s. *Science*, 295, 838-841, doi:10.1126/science.1065835

**Chira, K.; Suh, J. H.; Saucier, C.; Teissedre, P. L. (2008)** ,Les polyphénols du raisin Phytotherapie,n° 6 (2),pp 75-82.

**Chung ,Y,C., Chang ,C,T., Chao ,W,W., Lin, C,F., Chou, S,T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic ex- tract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *J Agric Food Chem* n°50: 2454–2458  
Clark-Lowes, D.D. (Eds.), *Petroleum Geology of North Africa*. Geological

**Collins, M. D., C. Ash, J. A. E. Farrow, S. Wallbanks, and A. M. Williams., (1989).** 16S ribosomal ribonucleic acid sequence analyses of lactococci and related taxa. Description of *Vagococcus fluvialis* gen. nov., sp. nov. *Journal of Applied Bacteriology* n° 67, pp453–460.

compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeuti-

**De Man J.C, Regosa M., Et Sharpe M.E. (1960).** A medium for the cultivation of lactobaccili. *J. appl. Bacteriol*; n° 23,pp130\_135.

**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, pp: 343-407 .

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

**Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C.(1994).** Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, pp125-114.

**DERBEL S. & GHEDIRA K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, n°1 pp,28-34.

**Desmazeaud ,M,J. (1996).** Les bactéries lactiques dans l'alimentation

**DRIDER,D,(2009).** Bactéries lactiques, Physiologie, Métabolisme,

**Eimerbrink,M. J., Pane, M, et al. (2016).** Probiotic Streptococcus

**El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi, K.E.,**

**Bazukyan,I., Choiset, I., Rabesona,H., Sitohy, M., Popov, Y. G., Kuliev, A.**

**A., Mozzi,F., Chobert, J. M., Haertlé, T.(2011).** Potential use of lactic bacteria

for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods.

*Trends in Food Sci. Technol.* , n°22.pp 509-516.

**Ercolini D., Moschetti G., Blaiotta G., Coppola S.( 2001).** Behavior of

variable V3 region from 16S rDNA of lactic acid bacteria in denaturing

gradient gel electrophoresis. *Current Opinion in Microbiology*,n° 42,pp199-202 .

exercise. *Nutrients*,8(10), 642

**Favier ,A.(2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la Fermented with *Lactobacillus* Species Isolated from Nigerian Fermented Foods.

**Fontaine ,E.(2007).**Nature Stability of organic carbon in deep soil layers

controlled by fresh carbon supply 8 450(7167) doi ;10,1038/nature06275 pp

277-80.

*Food Technology and Biotechnology*, n°48(4),pp 505-511.

**Gardès-Albert, M, Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh Z., Daniel D.**

**(2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*. pp: 91-96.

**Garrel ,C, Ceballos-Picot ,J., Germain G., Al-Gubory KH.( 2007).** Oxidative

Génomique et Applications industrielles, *Economic.*, chap. II («

**Goudable J., Favier ,A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr*

*Clin Mdtabol*, n° 11, p. 115-120.

Growth." Presented at the American Economic Association annual meetings in

**Guiraud, R. (1998).** Mesozoic rifting and basin inversion along thenorthern

**Haleng, J ., Pincemail, J.O., Defraigne, C., CHARlier, J.P., CHaPelle.**

(2007).Le stress oxidant.Lucienne ALI-DELILLE. (2010). les plantes  
medicinales d'algerie. 2ème édition : BERTI Editions. Alger, 32p

**Hang-Ching ,L, Wen-Liang, C.(2000).** Phytochemistry 53 (, 951-953,

**Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., and Schillinger, U.**

(2001) Taxonomy and important features of probiotics food and nutrition. Am.  
J. Clin. Nutr., 73, 365– 373

humaine: utilisation et innocuité.Cahiers Agriculture.pp 331-343.

**Idoui, T., Sifour., M. (2016).** Novel isolates of lactobacilli from crop of  
Algerian.V 45 pp 347-353.

in plant and agri-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and

**Izzedine,H ., Deray,G.(2011).** Acide urique et fonction rénale. Revue du  
Rhumatisme. Elsevier Masson, , Vol. 78, pp. S134-S141.

**Jäger, R., Purpura, M., Stone, J. D. Turner, S. M., Anzalone, A. J.,  
Keefer, P., Stephen, K. (1995).** "Inequality, Property Rights, and

**Khalid, NM, Marth ,E,H .(1990)** Purification and partial characterization of a  
prolyl-dipeptidyl aminopeptidase from *Lactobacillus helveticus* CNRZ 32. App/  
Environ Microbio/ 56, 381-388

**Kim J, et al. (1997)** Transport of a large oligomeric protein by the cytoplasm to  
vacuole protein targeting pathway. J Cell Biol 137(3):609-18

**Koehlin-ramonatxo, C. (2006).** Oxygene, stress oxydant et supplémentations  
antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies  
respiratoires. Nutr Clin Metabol 20, 165-177

**König, H ., Fröhlich, J. (2009).** Biology of microorganisms on grapes, in must

**Kusuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R. and Fryer, J.L. (1991).**

*Enterococcus seriolicida* sp. nov., a fish pathogen. International Journal of  
Systematic Bacteriology n°41, 406-409.

**Laurent, S. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Poly technica Paris.  
307 pages

**Lecerf JM, Luc G, Fruchart JC. (1994).** Vitamine E, antioxydants et athérosclérose, Rev Med Interne ; 15 641-649

**LeClerc, F., Schmitt, B., & Dube, L. (1994).** Foreign Branding and its Effects on Product Perceptions and Evaluations. Journal of Marketing Research, 23 (May), pp 263-270.

LOUBIERE, Muriel COCAIGN-BOUSQUET » 593 p.

**Makhloufi ,K,M.( 2012).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie. (école doctorale iviv)

**Marth, E. H. et Steele, J. L.( 2001).** Applied dairy microbiology. Subjects Food Science & Technology Marcel Dekker, Inc., New York.pp 736.

**Maryam , A.S.A., Zaiton, H., Mohamed Muftah, A., Et al.(2012).**

Antioxydant activity of lactic acid bacteria fermental skim milk as determined by DPPH and ferrous chelating activity. African journal of Microbiology Research, n°34, pp 6358\_6364.

Métabolisme des bactéries lactiques, Devenir du carbone, Pascal

**Meyer JL, Wallace JB. (2001).** Lost linkages in lotic ecology: rediscovering small streams. In Ecology: Achievement and Challenge. ed.M Press, N Huntly, S Levin,.Boston: Blackwell Sci. In press. pp. 295–317.

**Mira JP.( 2008).** L'albumine endogène : un pouvoir antioxydant majeur, Réanimation Hors série n °3,pp 7-9.

**Mishra S., Singh A., Keswani C., Saxena A., Sarma B. K., Singh H. B.**

(2015). “Harnessing plant-microbe interactions for enhanced protection against phytopathogens,” in *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets* ed. Arora N. K. (New Delhi: Springer; ).pp 111–125

**Mkrtchyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K.,**  
(2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*. N°35: 255-260.

**MOZZI, F., RAYA, R., VIGNOLO, G, M .(2010),** New approaches for the study of Lactic Acid Bacteria Biodiversity: A Focus on Meat Ecosystem. In: *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: acteria Biodiversity: A Focus on Meat Ecosystem*. In: *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*. (Mozzi, F., R. R. Raya, G. M. Vignolo, Eds.). Blackwell Publishing. pp. 251-272.  
n°24,pp 142-147.

**Nzengue,Y. (2008)** .Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc: place des métallothionéines et de. Thèse doctorat en biologie.pp53.

**Osuntoki, A., Korie, I. (2010).** Antioxidant Activity of Whey from Milk performance and range-of-motion decrements following muscle damaging

**Pincemail J, Defraigne JO, Franssen C, et al.—.(1990)** Evidence of in vivo free radical generation by spin trapping with alpha-phenyl N-tert-butyl nitron during ischemia/reperfusion in rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun*, n °9,pp 181-186.

**Pincemail J.,Bonjean K ., and Defraigne J O.( 2002)** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante.*Nutrition Clinique et Métabolique*,n°16.pp 233-239.

potential uses. *Food Chem*, n° 99, 191-203.

poultry as potential probiotic for food industry. *International Journal of*

**Pringsulaka , O., Thongam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W.,**

**Pothivejkul, K., Rangsiruji, A. (2011).** Partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai-fermented meat and fish products. *Food Control* ,n° 23 pp 547-551.

produisant des substances antibactériennes, pp 43.  
que. *l'actualité chimique* - novembre-décembre, pp 108-115.

**Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A.(2004).** Lactic acid bacteria. microbiological and functional aspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A .pp515 ;530.

**Satura.,Federighi, (1998).** In Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara – Boumerdés

**Schleifer, K., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Baelz, R., Collins, MD. and Fischer,W.(1985).** Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology*.n° 6,pp 183-195.

**Sharma, B,Singh,S.,. Siddiqi,N ,J(2014)** “Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems,” *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 640754, 26 pages.

Society, London, Special Publication n° 133,pp. 217–229.

**Stiles, M.E. and Holzapfel, W.H. (1997)** .Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current Taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, n°36,pp 1-29.

stress-inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F<sub>2</sub>α-induced luteal cell death in vivo. *Free Radic Res*, n°41 pp 251-259.

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

**Teixeira W, Carneiro MA, Noce CM, Machado N, Sato K and Taylor PN. (1996)a.** Pb, Sr and Nd isotope constraints on the Archean evolution of gneissicgranitoid complexes in the southern São Francisco Craton, Brazil. Precam Research n° 78 pp 151-164.

**Tessier,A.P.G.C.campbell ., M.Boisson.Anal.Chem.,(1979).**vol51 ,pp 844.  
thermophilus FP4 and Bifidobacterium brevi BR03 supplementation attenuates  
**THÉROND P.E. (2006)** Modèles de durée – applications actuarielles, Paris : Economica .pp 250.

**Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., Kumon, H.**

**Wang J., Ma Z., Carr S.A., Mertins P., Zhang H., Zhang Z., Chan D.W., Ellis M.J.(2017).**Townsend R.R., Smith R.D.et al. Proteome profiling outperforms transcriptome profiling for coexpression based gene function prediction. Mol. Cell. Proteomics. N°16 pp121–134.

**Wang Y., Han F., Hu B., Li J. Et Yu W (2006).** In Vivo prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydroly-sis of alginate. Nutrition Research; 26: 597\_603.

Washington DC, January. IRIS Working . pp. 153

**Wink, M.(2010).**Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. Annual Plant Reviews Volume 40: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism, Second Edition, p. 1-19.

**Yang, J. Wright, T. Huang, and Y.(2008),** Ma. Image super- resolution as sparse representation of raw image patches. In 2008 IEEE Conference on

Computer Vision and Pattern Recognition, pages 1–8, June 2008

**Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R., (2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. Int. J. Dairy Sci. n° 3pp 194-199.

**Zeraoulia M., Riane K., Ouled-Haddar H., Sifour M., Ainoune NEH., Idoui T.(2012).** L'activité antioxydante des exopolysaccharides des bactéries lactiques. pp 237.

**Zhang ,L., Liu, C., Li D., Zhao, Y., Zhang ,X., Zeng ,X., et al. (2012).** Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. Int J Biol Macromol 2013;54:270–5. doi:10.1016/j.ijbiomac..pp12. 37.

**Zhang F., Hangb X., Lia G. & Yang, H.(2007).** Sélection and optimization procedure of synbiotic for cholesterol removal. *Écology/Environmental Microbiology Anaerobe*, n°13pp185\_192.

**Zhang, Y., Li, Y. (2012).** Engineering the antioxidative properties of lactic

**Zhang,K., Zuo,W, Chen, Y., Meng,D ., Zhang,L.,Be- yond.(2017).** a gaussian denoiser: Residual learning of deep cnn for image denoising. *IEEE Transactions on Image Processing*, PP(99):1–1.

# **Annexes**

## Annexe 01:

### Milieux de cultures

#### Milieu MRS composition :

Peptone 10 0g

Extrait de viande 8 0g

Extrait de levure 4 0g

Acétate de sodium trihydraté 5 0g

Citrate d'ammonium 2 0g

Tween80 1 0g

Hydrogénophosphate de potassium 2 0g

Sulfate de magnésium heptahydraté 0 5 g

Sulfate de manganése tétrahydraté 0 05g

Agar 10 0g

pH= 6 5

## **Annexe 02**

### **Réactifs et Solutions**

#### **Test de DPPH :**

1ml de solution DPPH
1ml de souche bactérienne
1ml eau distillée
Methanol (blanc)

#### **Test de Frap :**

0,5 de chaque souche bactérienne
0,5 ml PBS (6,6)
0,5 ml de ferrocyanure
0,5 TCA 10%
0,5 ml l'eau distillée
0,2 ml FeCl <sup>3</sup>

#### **Test peroxydation lipidiques :**

31 ml PBS

5 ml jaune d'œuf

1ml  $\text{FeSO}_4$

0 5 ml de chaque souche bactérienne

1 ml TCA 20%

2 ml Acide barbiturique

**Les solutions utilisées :**

**Solution de PBS**

Pour préparer 1000 mL de PBS :

137 mM NaCl 8,0g/l

2 7 mM KCl 0 2 g/L

10 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1 42 g/L

1 76 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0 24 g/L

Solution TCA 20%/

20G  $\longrightarrow$  100

x  $\longrightarrow$  50 x= 50g eau D

