

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 DE SCIENCE ALIMENTAIRE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Slamnia Imène Et Saddok Asmaa Zahira

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE

Spécialité: Nutrition Et Pathologie

THÈME

Aptitudes technologiques des souches lactiques locales

Soutenue publiquement le 02/07/2018

DEVANT LE JURY

Président	Mr. CHAALEL Abdelmalek	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Mme KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima	MAA	U. Mostaganem
Examineurs	Melle YAHLA Imène	MAB	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques ,des Aliments fonctionnels et de la Santé (LMBFAS) de l'université de Mostaganem à L'INESS.

Remerciement

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

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre Encadreur **Mme Kouadri Boudjelthia***

de nous avoir proposé ce thème, pour ses orientations et son suivi durant toute la période de la réalisation de ce travail.

*Nous tenons à remercier vivement **Mr Chaalel***

de nous avoir fait un immense honneur en acceptant de présider le jury.

*Nos vives remerciements s'adressent également à **Melle. Yahla** d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.*

Un remerciement très particulier aux Ingénieurs de laboratoire pour leurs soutiens et leurs infini gentillesse.

Nos très spéciaux remerciements reviennent à nos Parents, et aux familles: Slamnia ,et Saddok

Et à tous nos amis pour leurs encouragements et leurs compréhensions.

Enfin, nous ne pouvons pas terminer sans remercier tous nos camarades de la promotion (2017/2018)

Merci à tous !

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail tout d'abord aux personnes les plus chers
à mon cœur sur cette terre:*

*Ma mère **Kheira** qui a su habilement guider mes premiers pas dans
ce monde. Chère mère, j'avoue vraiment que tu es pour moi la lumière
qui guide mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite, c'est
grâce à toi que je dois toute ma réussite; et à mon cher père, **Hamza**
dont le courage et l'éducation ont fait de moi ce que je suis. je me
rappelle toujours de tous les moments où tu m'a poussé à travailler et
à réussir , je me rappelle aussi que c'était toi qui m'a poussé à choisir
la biologie, je suis fière de l'avoir choisi comme carrière... Cher père
j'avoue que: ce que je suis devenue actuellement c'est grâce à tes
efforts, à tes conseils et à ta surveillance.*

Que Dieu vous garde, tous les deux.

*A la mémoire de ma chères soeurs : karima 'Qu'Allah l'accueille en
son vaste paradis' ,*

A mes chères sœurs: Souad ,Djamila ,Leila , Nour Elhouda .

A mes chers frères :djamel et hichem .

*A mes nièces et mes neveux :Anes ,Belkiss, Nawress , Abir ,Moh
Faress ,Ibrahim Elkhalil ,et Hadil .*

*A mes chers Grands parents: Sidi Adjal et Nacer Yamina , et
Belghoul Djilali avec Menad Bakhta .*

A tous mes oncles et mes tantes.

A tous mes cousins et cousines.

*A mon mari Mohamed et à toute ma belle famille surtout ma belle
sœur Fatima .*

*A ma chère amie Hafssa qui ma toujours encouragé et soutenu durant
toutes mes années universitaires.*

*A Ma binôme et chère amie Assma, avec qui j'ai partagé des moments
difficiles et des moments agréables le long de ce travail.*

*A mes chers amies : samba garba mansouro , saada ,fatiha, nouria
amina , amira , faiza , djouhar ...*

A vous tous merci

Imene

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chère parents qui m'ont beaucoup soutenu et

Encouragé jusqu'au bout

Et que dieu leur accorde une longue vie.

*A mon cher mari, qui a su être présent tout le long de la réalisation
de ce travail*

A mon ange mon fils que dieu le garde pour moi

Mon cher frère et Mes chères sœurs

A mes beaux parents

A Mes belles sœurs

A mes beaux frères

Mes grands-parents ;

Mes oncles, mes tantes et leurs familles ;

A Mes amies

*Sans oublier mes très chère amies Imene , Hafssa , Hadja , wafaa ,
Fatiha et Djohar a qui je souhaite plein de bonheur et de succès à
leur vie.*

Asmaa

Résumé :

Le présent travail vise à la mise en évidence des aptitudes technologiques chez dix souches lactiques qui sont déjà isolées à partir de lait de vache, à savoir: Le pouvoir acidifiant, protéolytique, et lipolytique; la production d'acétoïne et d'EPS; et la résistance aux antibiotiques et à la chaleur . La majorité des souches sont des bacilles appartenant au genre *Lactobacillus* sp. Un essai de culture mixte est réalisé après un test d'interaction entre les souches et qui est évalué en même temps que les cultures pures. Les souches (LbN09,LbN11et LbN15) sont les plus performantes avec un pouvoir acidifiant remarquables, dont les quantités très élevés en acide lactique [20g/l-25g/l] et le ferment mixte avec 10,9 g/l. L'activité protéolytique et lipolytique s'est révélé intéressante ainsi que la production d'acétoïne. toutes les souches résistent aux températures de 63°C et 65°C et non à 100°C. Pour le test d'antibiogramme la résistance chez les souches est observé pour toute la gamme d'antibiotiques utilisée sauf pour la Colistine dont la sensibilité est variable selon la souche considéré. Ces souches révèlent de bonne propriétés technologiques (texture, aromatisation, et coagulation) qui peuvent être exploitées dans l'industrie laitière.

Mots clés : bactéries lactiques, lactobacilles, aptitudes technologiques, ferment lactique.

Abstract :

The present work aims to exhibit the technological abilities of ten lactic acid strains, already isolated from cow's milk, as :lactic acid production, proteolytic and lipolytic potency; production of acetoin and EPS; and antibiotics and heat resistant. All strains belong to the genus of *Lactobacillus sp.* A mixed culture is obtained after interaction test between the strains in order to be evaluated at the same time with the pure cultures. The strains (LbN09, LbN11 and LbN15) are the most powerful and have a high power of lactic acid production: [20g / l-25g / l], also the mixed ferment also showed a good production with 10.9 g / l of lactic acid. Proteolytic and lipolytic activity was interesting and variable according to the considered strain as well as the production of acetoin. all strains are resistant to temperatures of 63 ° C and 65 ° C but not for 100 ° C. About Antibioqram test, the strain resistance is observed for the whole range of antibiotics used except for Colistine. These strains showed interested technological abilities (texture, aromatization, and coagulation) that can be exploited in the dairy industry.

Key words: lactic acid bacteria, lactobacilli, technological abilities, lactic ferment .

المخلص:

يهدف هذا العمل الى دراسة مجموعة من الكفاءات التكنولوجية عند عشر بكتيريات لبنية وذلك بتقييم قدرتها على انتاج حمض اللاكتيك، تحليل بروتين الحليب الكازيين، تحليل الدهون، انتاج الالاسيتوين و قدرتها على مقاومة بعض المضادات الحيوية ودرجات حرارة عالية. اغلب البكتيريا اللبنية المستعملة هي من نوع سلالة العصيات اللبنية. بعد انجاز الاختبارات التجريبية تم التعرف على ان السلالات المستعملة لديها قدرة على انتاج كميات معتبرة و كبيرة من حمض اللاكتيك تتراوح ما بين 20 الى 25 غرام في اللتر ومن خلال اختبار تعايش السلالات فيما بينها تم تركيب خليط لبني متركب من السلالات المستعملة والذي قمنا ايضا باختباره في نفس الوقت مع السلالات الاخرى وكانت كمية حمض اللاكتيك المتحصل عليها تقدر ب 10,9 غرام في لتر. اما بالنسبة للتجارب تحليل البروتينات والدهون فكانت النتائج ايجابية وتختلف باختلاف السلالة وتميزت ايضا بإنتاج مادة الالاسيتوين وقاومت درجات الحرارة (63,65 درجة) ماعدا 100 درجة. واخيرا بالنسبة للحساسية اتجاه المضادات الحيوية فكانت اغلبية السلالات غير حساسة ماعدا نحو الكوليسيتين . توصلنا الى ان هذه السلالات لديها خصائص تكنولوجية جيدة والتي قد تسمح لها ان تكون مؤهلة للاستعمال كخمائر لبنية في صناعات الحليب و مشتقاته.

الكلمات المفتاحية البكتيرية اللبنية . بكتيريا العصية اللبنية . خصائص تكنولوجية . مخمر لبني .

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....01

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Bactéries lactiques.02

I. 1. Historique et généralités02

I. 2. Habitat et origine des bactéries lactiques.....02

I.3. Taxonomie des bactéries lactiques03

I.4. Le Genre *lactobacillus*.....04

I.4.1. Principales voies métabolique des bactéries lactiques.....04

A. La fermentation lactique05

B. La protéolyse.....06

C. La lipolyse:.....07

I.5. Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....08

A. Pouvoir acidifiante08

B. Pouvoir protéolytique08

C. Pouvoir lipolytique08

D. Pouvoir texturant10

E. Pouvoir aromatisant10

F. Résistance aux antibiotiques10

I.6. Intérêt des bactéries lactiques en industrie laitière.....11

II. les ferments lactiques.....13

II.1. Définition13

II.2. Types de ferments lactiques13

II.2.1. Classification selon la composition13

A. Les ferments purs13

B. les ferments mixtes13

C. Les ferments mixtes sélectionnés13

II.2.2. Selon la température de croissance13

A. Ferments mésophiles14

B. Ferments thermophiles	14
II.3. Critères de sélection des ferments lactique	14
II.4. Rôle des ferments lactique	15

Partie II : Matériel et méthodes

II.1.Objectif.....	16
II.2. Lieu de l'étude.....	16
II.3. Matériels	16
II.3.1. Matériels biologiques	16
II.3.2. Milieux de culture	16
II.3.3. Produits chimiques et réactifs	17
II.3.4. Appareillage	17
II.3.5.Petits matériels	17
II.4.Méthodes	17
II.4.1.Revivification des souches.....	17
II.4.2.Etude morphologique	17
II.4.2.1. Aspect macroscopique	18
II.4.2.2. Aspect microscopique.....	18
II.4.2.3. Recherche de la catalase	18
II.5. Evaluation des aptitudes technologiques chez les souches lactiques	18
II.5.1.. Pouvoir acidifiant	18
II.5.2.. Pouvoir protéolytique	19
II.5.3.. Pouvoir lipolytique.....	19
II.5.4.. Pouvoir texturant	19
II.5.5. Pouvoir aromatisant	19
II.5.6. Résistance aux antibiotiques.....	20
II.5.7. La thermo-résistance	20
II.5.8. Interactions entre les souches	20
II.5.8.1. Mise en évidence de quelques aptitudes technologiques la culture mixte	21

Partie III : Résultats et discussion

III.1. Examen macroscopique et microscopique	22
III.2. Evaluation des aptitudes technologiques chez les souches lactiques.....	24
III.2.1. Pouvoir acidifiant.....	24
III.2.2. Pouvoir protéolytique	27

III.2.3. Pouvoir lipolytique	29
III.2.4. Pouvoir texturant	30
III.2.5. Pouvoir aromatisant	31
III.2.6. Résistance aux antibiotiques	32
III.2.7. La thermo-résistance	34
III.2.8. Interaction entre les souches	35
Conclusion et perspectives	36

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux Genres de bactéries lactiques (Matamoros, 2008).....	03
Tableau 2 : Rôle de quelques espèces de lactobacilles utilisés en industrie laitière (Lamontagne et <i>al.</i> ;2002).....	12
Tableau 3 : Utilisation commerciale et effets bénéfiques de quelques souches lactobacilles utilisés comme ferments alimentaires (Prioilt ;2003).....	15
Tableau-04: Listes des souches lactiques utilisées dans cette étude.....	16
Tableau 05 : Caractères microscopiques des souches lactiques locales.....	23
Tableau 06 : Évaluation de la vitesse de production d'acide lactique (Δ Ph) chez les souches de lactobacilles utilisées.....	26
Tableau 07 : Diamètres des zones de protéolyse chez les souches lactiques testées (en mm).....	27
Tableau 08 : Croissance des souches lactiques aux températures: 63°C; 65°C; et 100°C.....	34

Liste des abréviations

D° : Degré dornic

EPS: exo-polysaccharides

h : heure

H₂O₂ : eau oxygénée

Lb: *Lactobacillus*

MRS: Man Rogosa Sharp

N : normalité.

NaOH :Hydroxyde de sodium .

PH : Potentiel d'hydrogène.

Sp: espèces.

Subsp: sous espèces..

T°: Température.

V : volume.

VP : Voges proskauer.

Liste des figures

Figure 01: Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (Kandler.,1983).....	05
Figure 02: Représentation des protéases de paroi de différentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Siezien (1999) et Savijoki et al.(2006). CW : paroi cellulaire, M : membrane cytoplasmique, C : cytoplasme.....	07
Figure 03: Système protéolytique des bactéries lactiques (Kunji <i>et al.</i> ,1996).....	07
Figure 04: Principales voies de la lipolyse (Siegumfeldt et <i>al.</i> ,2000).....	08
Figure 05: Observation macroscopique des souches lactiques utilisées.....	22
Figure 06: Cinétique d'évaluation du pH des souches lactiques au cour de temps	25
Figure 07: Évaluation de la production d'acide lactique par les souches lactiques	25
Figure 08: Évaluation de la production d'acide lactique et la variation du pH par le ferment mixte.....	26
Figure 09: Photos des zones de protéolyse chez les souches lactiques protéolytiques sur milieux agar au lait écrémé.....	28
Figure 10: Activité protéolytique du ferment mixte sur milieu agar au lait écrémé.....	29
Figure11: Activité lipolytique sur milieu à l'émulsion du jaune d'œuf.....	30
Figure12: Aspect des colonies sur milieu hyper-saccharosé.....	31

Figure 13: Production de l'acétoïne par les bactéries lactique: A. Les cultures sans réactif vp1/vp2; B. Témoin + réactif vp1/vp2; C. Les cultures +réactif vp1/vp2.....	32
Figure14 : Antibiogramme des souches lactiques et le ferment mixte.....	33
Figure 15 : Interactions entre les souches lactiques.....	35

Introduction

Introduction

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, et sont très utilisées en industrie alimentaire, surtout laitière où elles sont impliquées dans la production de divers produits laitiers fermentés.

En effet la production d'acide lactique est essentielle à la fabrication des produits laitiers et leur confère une saveur typique (**Labaoui et al.,2005**). Ces bactéries contribuent aussi par leurs activités enzymatiques variées, à la production de composés volatils qui participent au développement de l'arôme, de la saveur, et de la texture de plusieurs produits laitiers. Certaines bactéries lactiques produisent des exo polysaccharides qui jouent un rôle important dans le développement de la texture de plusieurs produits laitiers (**Labaoui et al.,2005**).

Elles sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans la fermentation alimentaires (**Hikmate et al.,2012**), sous forme de ferments lactiques commerciaux (**Axelsson, 2004 ; Streit et al.; 2007**).

Actuellement, on définit les ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme les yaourts, et les fromages (**Leroy et De Vuyst.,2004 ; Mäyrä-Mäkinen et Bigret .,2004**).

L'objectif de ce travail vise l'évaluation des aptitudes technologiques (en culture pure et mixte) de dix souches de bactéries lactiques appartenant au Genre *Lactobacillus* déjà isolées à partir du lait de vache.

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Les bactéries lactiques

I.1. Historique et généralité

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 hétéro lactiques si d'autres composés sont aussi présents comme l'acide acétique, éthanol, et CO₂ (**Leveau et Bouix.,1993 ; Pilet et al.,2005**).

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

I.2. Habitats 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 physico-chimique 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 lactiques

La taxonomie des bactéries lactiques ne cesse d'évoluer depuis leur description par **Orla Jensen en 1919**, où il a décrit une première classification selon le métabolisme fermentaire des carbohydrates, ce qui a permis de les classer en deux groupes selon le type de la fermentation lactique : Le groupe homofermentaire, et hétérofermentaire (**Dellaglio et al., 1994**).

Rappels bibliographiques:

Cependant, la caractérisation phénotypique et biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire, de ce fait, et selon la morphologie cellulaire, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (Forme en bâtonnet: *Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (forme en cocci : *lactococcus*, *streptococcus* ...etc.). (Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007).

La classification des bactéries lactiques peut se faire aussi selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires.(Vandamme., 1996 ; Stiles et Holzopfel., 1997 ; Ho et al., 2007).

Tableau 01 : Principaux Genres de bactéries lactiques (Matamoros, 2008).

Genre	Forme de la cellule	Type de fermentation	Configuration de l'acide lactique	Espèce type
<i>Aerococcus</i>	Coques	Homofermentaire		<i>Ac. viridans</i>
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	L(+)	<i>Cb. divergens</i>
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétéro-fermentaire	D(-), L(+) ou D/L	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Lc. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Ln. mesenteroides</i>
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Oe. oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	Coques	Homofermentaire	D/L ou L(+)	<i>Pc. damnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Sc. salivarius</i>
<i>Tetragenococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Tc. halophilus</i>
<i>Vagococcus</i>	Coques ovoïdes	Homofermentaire	L(+)	<i>Vc. fluvialis</i>
<i>Weissella</i>	Petits bacilles	Hétérofermentaire	D/L ou D(-)	<i>We. viridescens</i>

I.4. Le Genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des différents genres du groupe des bactéries lactiques. Il s'agit de bacilles longs et fins, souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc *et al.*, 1994).

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

- **Groupe I** « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles homo-fermentaires thermophiles qui se développent à 45°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*. (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004).
- **Groupe II** « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homo-fermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétéro-fermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*. (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004).
- **Groupe III** « *Betabacterium* » : regroupe des lactobacilles hétéro-fermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. Sanfransisco* (Tamime., 2002 ; Guiraud et Rosec., 2004).

I.4.1.Principales voies métaboliques des bactéries lactiques

A. La fermentation lactique (Fig.01) : Les bactéries lactiques synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. La fermentation homolactique permet de produire deux molécules d'acide lactique (C3) par molécule de glucose (C6) consommé, et lors de la fermentation hétéro lactique une seule molécule d'acide lactique est produite à partir du glucose en plus de l'éthanol et de l'acide acétique et une molécule de dioxyde de carbone CO₂. La différence entre ces deux groupes est détectable par le dégagement de CO₂ (Bourgeois *et al.*, 1996).

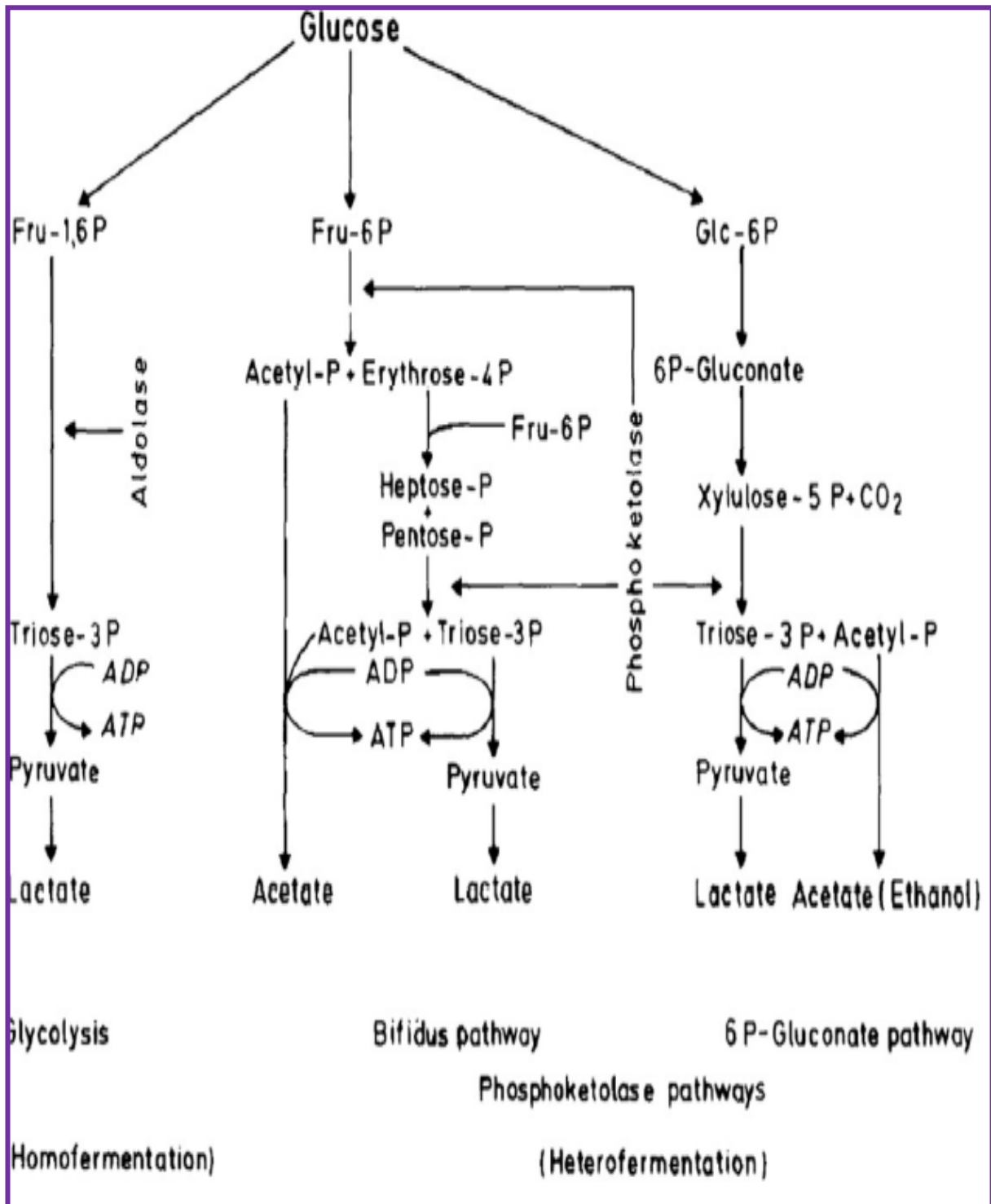


Figure 01 : Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (Kandler., 1983)

B. La protéolyse

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases qui peuvent être des aminopeptidases, dipeptidases ou tripeptidases, situées au niveau cytoplasme ou associées à la paroi cellulaire (**Law et Haandrikman.,1997**).

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

➤ **Les protéases de la paroi (protéolyse extracellulaire): (Fig.02)**

Le départ de la protéolyse chez les souches starters commence par l'action des CEPS qui sont des enzymes à serine, elles se lient de manière covalente à la paroi et hydrolyse les caséines en oligopeptides qui peuvent ensuite être transportés à l'intérieur de la bactérie (**Hassaine.,2013**). Les CEPs des LAB sont synthétisées comme pré-protéines d'environ 200 résidus. Elles sont composées de plusieurs domaines fonctionnels distincts : les domaines correspondent au peptide signal (PP), un domaine catalytique des protéases à sérine (PR), un domaine d'insert (I) qui régule probablement leur spécificité, le domaine (A) de fonction inconnue, le domaine B participant probablement à la stabilité, les domaines hélix (H) qui positionne (A) et (B) à l'extérieur de la cellule et un domaine hydrophobe (W) (**Hassaine., 2013**).

➤ **Les Peptidases:**

Les oligopeptides (**Fig.03**) produits par l'action de la protéase constituent la source principale d'acides aminés. Ils sont transportés à l'intérieur de la cellule par trois ou quatre transporteurs selon la souche. Ils appartiennent à deux grands groupes : les PRT (peptide transport) et les ABC (ATP-binding-cassette) transporteurs. Ces transporteurs se distinguent par leur organisation et leur spécificité (**Lopez.,2008**).

Rappels bibliographiques:

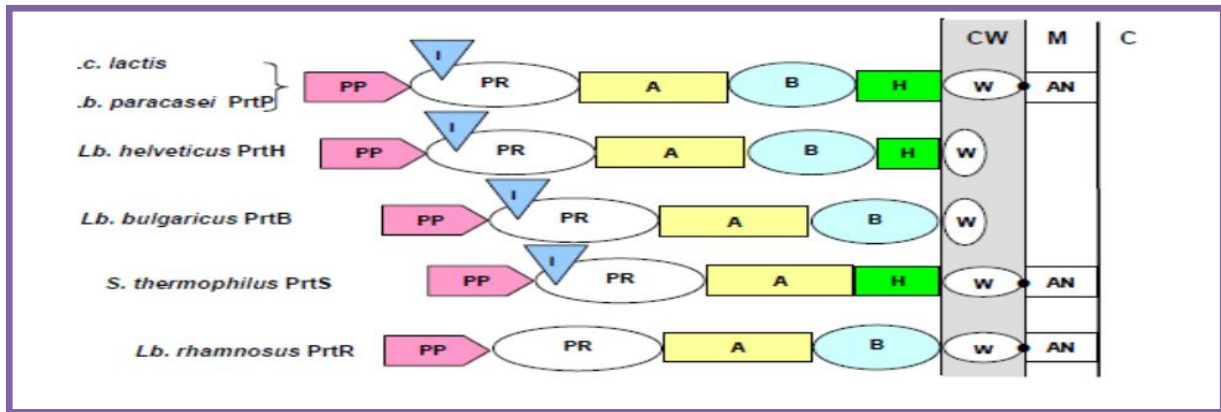


Figure 02: Représentation des protéases de paroi de différentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Siezien (1999) et Savijoki et al. (2006). CW : paroi cellulaire, M : membrane cytoplasmique, C : cytoplasme.

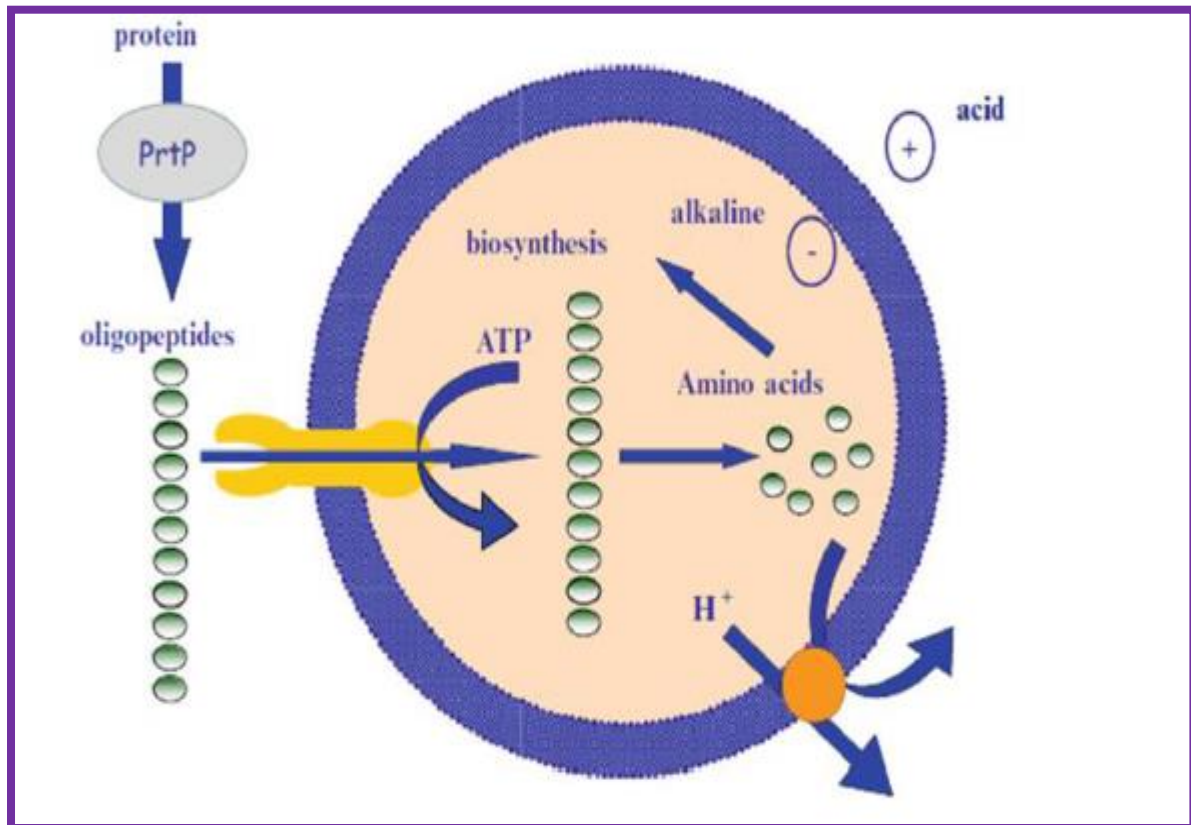


Figure 03 : Système protéolytique des bactéries lactiques (Kunji et al., 1996)

C. La lipolyse (Fig.04) : L'activité lipasique relativement faible chez les bactéries lactiques contribue à l'élaboration de la saveur des fromages lors des étapes de maturation et conduit à la formation des acides gras libres, mono et diglycérides et probablement du glycérol. Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et di glycérides, alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatils. Les acides gras, dont la concentration augmente pendant l'affinage, seraient responsables en partie de la saveur typique des fromages à pâte pressée cuite. Ils sont également des précurseurs pour la formation de méthylcétones, alcools, lactones et esters (Siegumfeldt *et al.*,2000)

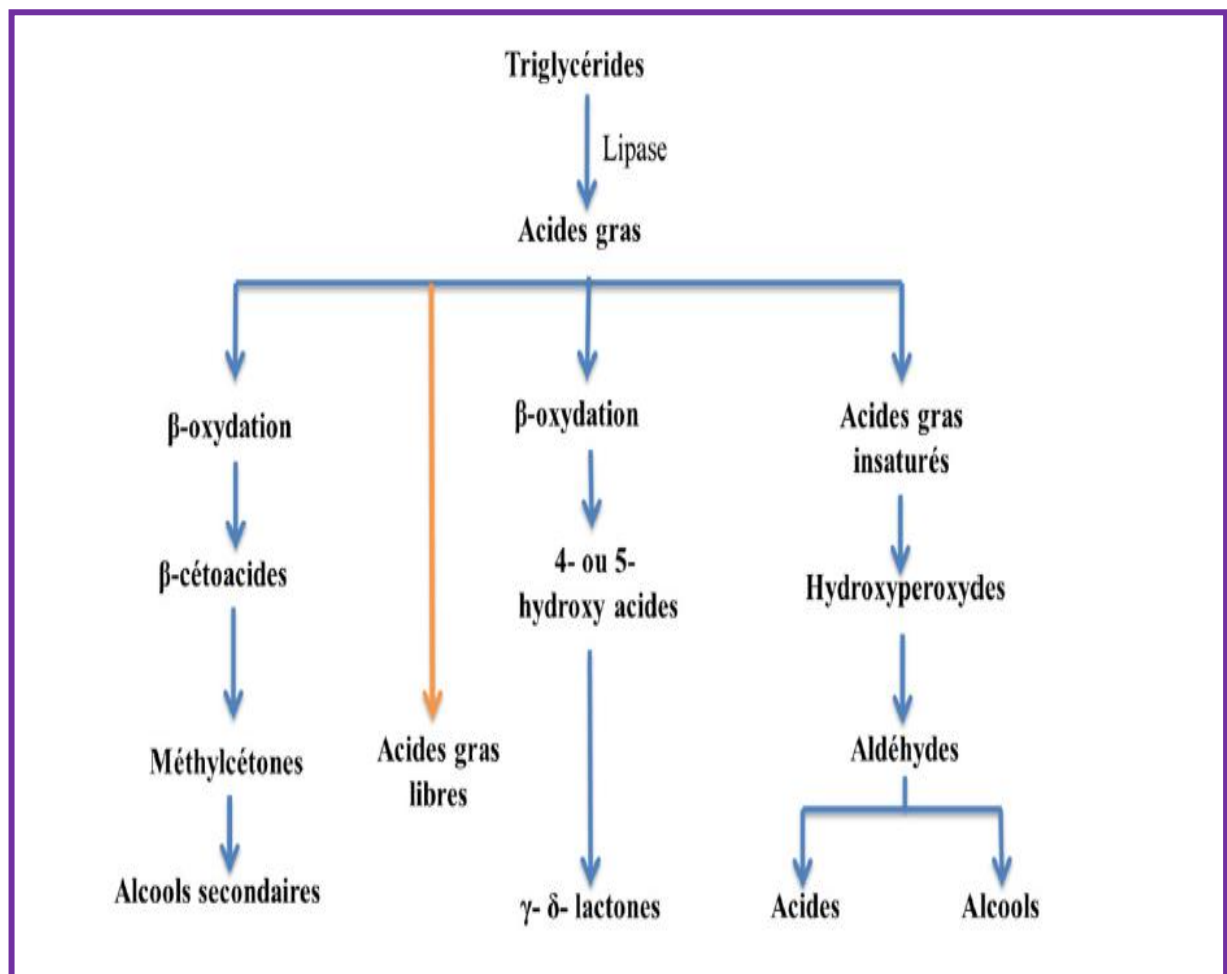


Figure 04 : Principales voies de la lipolyse (Siegumfeldt *et al.*,2000).

I.5. Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques

A. Pouvoir acidifiant : La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (**Mayra-Makinen et Bigret.,2004 ; Monnet et al.,2008**). Afin de réaliser une caractérisation technologique des souches, il est utile de mesurer l'activité acidifiante ((**Chavvari et al.,1983 ; Chamba et Prost.,1989**). *L. lactis subsp. lactis, ssp. cremoris et biovar. diacetylactis*, sont les trois bactéries lactiques les plus fréquemment citées pour leurs aptitudes acidifiantes et leurs rôles majeurs dans la fermentation de certains aliments (**Casalta et al.,1995 ; Lafarge et al., 2004**).

B. Pouvoir protéolytique : Les bactéries lactiques ne sont pas capables de synthétiser les acides aminés nécessaires pour leurs survie donc elles ont besoin d' un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote (**Law et Haandrikman.,1997**). L'activité de protéolyse des bactéries lactiques permet la catalyse de l'hydrolyse des protéines en peptides qui sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides. Des études effectuées sur la protéolyse du cheddar fait avec ou sans ferments lactiques ont démontré l'importance de la protéolyse pour la libération de petits peptides et d'acides aminés libres durant la maturation fromagère (**Lynch et al.,1997; Lane et Fox., 1996; Farkey et al.,1995**). Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Donkor et al.,2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al.,2009**).

C. Pouvoir lipolytique : Les activités lipolytiques des micro-organismes sont importantes pendant les étapes de maturation de certains produits alimentaires , et ces activités contribuent généralement au développement de différentes saveurs (**Ortiz de Apodaka et al.,1993**). Les Propriétés lipolytiques des bactéries lactiques sont généralement faibles et varient d'une espèce à l'autre. En effet , il a été démontré que les lactobacilles et *strptococcus thermophilus* présentent des activités lipolytiques faibles à comparer par les lactocoques qui eux sont considérés plus lypolytiques (**Béal et al.,2008**). D'une manière générale, on distingue les estérases qui hydrolysent les esters formés avec les acides gras à courtes chaines; les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides

gras à longues chaînes; ces enzymes sont impliquées aussi dans l'hydrolyse de mono; di et triglycérides. On retrouve aussi les licéthinasés qui hydrolysent le complexe licétine-viteline avec l'action des protéases (**Béal et al.,2008; Serhan et al.,2009**).

D. Pouvoir texturant : La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (**Welman et Maddox.,2003 ; Ruas- Madiedo et al.,2002**). Ces composés polymères sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire. Les *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, et augmenter la viscosité des produits finis (**Durlu-Özkaya et al.,2007 ; Aatayakul et al., 2006**). L'utilisation des EPS est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (**Ruas-madiedo et al.,2005**).

E. Pouvoir aromatisants : Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés aromatiques qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**Tamime.,1990**). La production de diacétyl est généralement associée à la fermentation du citrate (**Vignola.,2002**). Les lactobacilles (*Lb. helveticus*, *Lb. bulgaricus*) synthétisent de l'acétaldéhyde. La teneur en acétaldéhyde est à la fois fonction de son degré de synthèse et du rythme de sa dégradation (**Vignola.,2002**). Les *Leuconostocs* hétérofermentaires sont souvent associés aux lactocoques dans la production de composants aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyl et acétoïne) (**Mahaut et al.,2000**).

F. Résistance aux antibiotiques: Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes aux antibiotiques et la plus part des cas de résistance ne sont pas transmissibles. Mais il est possible que cette résistance soit portée par un plasmide et donc peut être transféré à d'autres bactéries. C'est une raison significative pour choisir des souches manquantes du potentiel de transfert de résistance (**Denohue.,2004**). 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 des gènes de résistance transmissibles. Par conséquent, avant de lancer des cultures probiotiques, il est important de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne comportent pas de gènes de résistance aux antibiotiques transmissibles (**Ammor et Mayo.,2007**).

I.6. Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie laitière

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques très diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité leur donne un grand intérêt industriel d'où leur large spectre d'application dans de nombreux domaines alimentaires, pharmaceutiques, agricultures, vétérinaires ...etc. (**Streit et al., 2007**).

L'utilisation des bactéries lactiques en industrie alimentaire est déterminée par leurs propriétés technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : activité acidifiante, et enzymatiques (activité protéolytique, peptidasique et lypolytique), production de métabolites d'intérêt telle que la peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines (**Belyagoub.,2014**). De plus, ces bactéries contribuent à la texture (production des EPS), la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques qui participent aux qualités organoleptiques des fromages par exemple (**Ennadir et al.,2014**).

D'autres qualités ont depuis été associées aux bactéries lactiques lorsqu'elles sont associées aux produits alimentaires comme l'augmentation des valeurs nutritionnels des aliments, la réduction de la formation de produits toxiques et la propriété de probiotique. (**Ennadir et al.,2014**).

Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : les laits fermentés, les fromages, les olives fermentés et certains vins. (**Axelsson.,2004 ; Streit et al.,2007**).

L'industrie laitière reste toujours , le plus grand utilisateur de bactéries lactiques sous forme de ferments lactiques commerciaux (**Axelsson.,2004 ; Streit et al.,2007**). Par exemple En fromagerie, les lactobacilles sont généralement utilisés pour la préparation de pâtes dures ou semi-dures typiques des fromages suisses et italiens (**Alice et Sanchez- Rivas.,1997**)

Aussi ils sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques (**Rodriguez et al.,2003**).

Tableau 02 : Rôle de quelques espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière (Lamontagne et al.,2002)

Espèces	Emploi en industrie	Rôle
<i>Lb. bulgaricus</i>	Yogourt – fromage (mozzarella...)	Acidification en cours de production protéolyse en cours de maturation libération du galactose pour le brunissement production d'arômes et de polysaccharides (yogourt).
<i>Lb. helveticus</i>	Fromages (suisse, mozzarella...)	Acidification en cours de production prévention de l'amertume (peptidase).
<i>Lb. casei</i>	Yogourt - fromage (cheddar...)	Un peu d'acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb. acidophilus</i>	Yogourt- lait acidophile	Acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb. kefir</i>	Kéfir	Acidification en cours de production

II. Les ferments lactiques

II.1. Définition

Un ferment est une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules, d'un seul microorganisme ou plusieurs, ajoutée à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation. (Leroy et De Vuyst., 2004 ; Mäyrä-Mäkinen et Bigre., 2004) .

Le groupe des bactéries lactiques occupe un rôle important dans ces processus et une longue histoire d'application. Actuellement, on définit les levains ou ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme les yaourts, et les fromages (Leroy et De Vuyst., 2004 ; Mäyrä-Mäkinen et Bigret., 2004) .

II.2. Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques sont classés selon leur fonction, leur température de croissance, et/ou leur composition (Carminati et al., 2010).

II.2.1. Classification Selon la composition: Selon la fédération internationale de laiterie (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories (Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008) :

A. Les ferments purs: Constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, c'est-à-dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne. (Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008)

B. Les ferments mixtes: Ils sont formés d'un mélange de souches avec un nombre et proportions indéfinis, ce type de ferments ont en général, une bonne activité acidifiante. (Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008) .

C. Les ferments mixtes sélectionnés : Contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur. (Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008) .

II.2.2. Selon la température de croissance : Les ferments lactiques sont classés en ferments mésophiles et ferments thermophiles : (Chamba., 2008 ; Carminati et al., 2010)

A. Ferments mésophiles : Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. (**Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010**). Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*) et des espèces aromatisantes (*Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*). (**Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010**). Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre (**Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010**).

B. Ferments thermophiles: Ils comprennent les lactobacilles, les bifidobactéries et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite tels que l'Emmental et le Gruyère (**Mäyrä-Mäkinen et Bigret., 2004 ; Carminati et al.,2010**).

II.3. Critères de sélection des ferments lactiques

La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur. Ces critères relèvent éventuellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leurs performances et de leurs sécurités. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée (**Béal et al.,2008**). La sélection d'un ferment lactique doit prendre en compte des critères de performance , Les bactéries devront répondre à certaines des spécificités suivantes (**Béal et al.,2008**) :

- Résistance aux bactériophages et aux traitements mécaniques .
- Tolérance aux inhibiteurs de croissance (antibiotiques, chlorure de sodium, L'acidité, l'éthanol et la température élevée).
- Aptitude à la congélation ou à la lyophilisation et à la conservation ;
- Comportement en présence d'oxygène et Croissance à des températures non optimales ;
- Compatibilité avec d'autres souches ; facilité d'emploi.

II.4.Rôle des ferments lactiques:

Les ferments lactiques interviennent dans la sécurité, la texture, le goût et la qualité organoléptiques de nombreux produits alimentaires. Les bactéries qui constituent ces ferments sont généralement des espèces connues qui sont sélectionnées pour leur activité globale technologique : l'acidification , la protéolyse , la production des bactériocines...et (DeRoissart et Luquet.,1985).

Plusieurs lactobacilles sont utilisés en tant que ferments lactiques (*Lb.sakei*, *Lb.plauntarum* et *Lb pentosus*) protecteurs dans les produits carnés . ils assurent un rôle inhibiteur de la croissance de bactéries indésirables , responsable de l'altération des aliments ou potentiellement pathogènes, ce rôle inhibiteur est attribué aux acides organiques et bactériocines produits par ces microorganismes (DeRoissart et Luquet.,1985).

Tableau03 : Utilisation commerciale et effets bénéfiques de quelques souches lactobacilles utilisées comme ferments alimentaires (Priault.,2003).

Souches	Produits
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (GG)	Yaourts à boire Yaourts Capsules
<i>Lactobacillus johnsonii</i> (La1) (Lj1)	Yaourts à boire Yaourts
<i>Lactobacillus casei</i> (Shirota)	Yaourts à boire Laits fermentés
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (NCFM)	Laits fermentés Yaourts Formules infantiles Capsules
<i>Lactobacillus plantarum</i> (229v)	Jus de fruits
<i>Lactobacillus casei</i> (DN-114 001)	Yaourts à boire

Partie II : Matériels et Méthodes

II.1. Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail consiste à mettre en évidence quelques aptitudes technologique, notamment le pouvoir de production d'acide lactique et le pouvoir protéolytique, lipolytique et la production d'acétoïne et d'exopolysaccharides.

II.2. Lieu de l'étude

L'ensemble de ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments fonctionnels et de la Santé (LMBFAS) de l'université de Mostaganem à L'INESS.

II.3. Matériels

II.3.1. Le matériel biologique

- dix souches lactiques (Tableau-04) qui ont été isolées à partir du lait de vache, ont été purifiées et conservées à 4°C et sont identifiées génétiquement dans le cadre d'une étude de doctorat de notre Encadreur Mme KOUADRI BOUDJELTHIA N.
- Une souche de *Lactobacillus plantarum* (LbP-CECT 748Velp s) qui appartient à la collection du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBFAS), a été utilisée comme souche témoin.

Tableau-04: Listes des souches lactiques utilisées dans cette étude

Souches	Origine	Type	Provenance
LbN01	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN05	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN09	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN10	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN11	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN12	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN13	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN14	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
LbN15	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS
<i>Lb. plantarum</i>	Lait de vache	Lactobacille	LMBFAS

II.3.2. Les milieux de cultures

- Eau physiologique : utilisée pour les dilutions.
- MRS (Man-Rogosa et Sharpe) : Bouillon et Gélose, utilisé pour la culture et la croissance des lactobacilles

- Milieu protéolytique (Agar au lait écrémé) : utilisé pour les tests de l'activité protéolytique.
- Gélose nutritive à l'émulsion de jaune d'œuf stérile : utilisée pour le test de l'activité lipolytique.
- Milieu hyper saccharose : utilisé pour le test de production d'EPS.
- Milieu Clarck et Lubs : utilisé pour le test de production d'acétoïne .

II.3.3. Produits chimiques et réactifs

- **Les disques d'antibiotiques** : Colistine , Acide Nalidixique, Streptomycine , Sulfamide , Gentamicine . à mettre avec les produits et réactifs.
- **Les Colorants et réactif**: Violet de gentiane ,Fuschine, Cristal violet ,Bleu de méthylène ,Phénolphtaline ; Réactif de Voges Proskauer (VPI et VPII), Éthanol , Lugol , Eau oxygéné.

II.3.4. Appareillage : Les différents appareils utilisés sont les suivants : Plaque chauffante avec agitateur ; Autoclave; Bain marie; Balance (KB 6000-1) ; Centrifugeuse électrique; Étuves; Microscope optique (OLYMPUS) ; ph mètre (HANNA ,Romanie) ; Réfrigérateur (CONDOR) ; Spectrophotomètre (JENWAY-7305 Royaume –Uni) ; Vortex électrique (STUART) .

II.3.5. Petits matériels : Anse de platine, bec-bunsen, boites pétri , éppendorfs , micropipette et la verrerie.

II.4. Méthodes

II.4.1. Revivification des souches lactiques:

Les souches lactiques étant conservées dans la gélose de de Man Rogosa et Sharpe (MRS) à 4°C, Leur revivification est réalisée en alternant des repiquages sur des milieux liquide (MRS bouillon) et solides (MRS gélose). L' incubation à été faite 37°C pendant 24h à 48h .

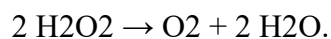
II.4.2. Etude morphologiques :

Afin de mettre en évidence les caractères cultureux des souches utilisées; l'aspect macroscopique et microscopique ainsi que le test de catalase ont été réalisé et nous ont permis en même temps de confirmer la présence et l'identification phénotypique des souches utilisées.

II.4.2.1. Examen macroscopique : Ce test consiste en une observation directe à l'œil nu des colonies obtenues sur milieux MRS solide et liquide. Il permet de nous renseigner sur l'aspect et la couleur des colonies sur milieu solide ainsi que l'aspect du trouble dans le milieu liquide (badis et al 2005).

II.4.2.2. Examen microscopique : Cet examen permet de décrire la forme et le mode d'association des cellules des souches lactiques utilisées à l'aide d'observation au microscope optique des frottis colorés avec la coloration de Gram (voir annexe) (sing leton.,1999).

II.4.2.3 Recherche de la catalase : La majorité des bactéries lactiques sont des anaérobies facultatives et n'ont pas besoin de synthétiser la peroxydase (Larpen ;1997). Pour confirmer que les Lactobacilles utilisées sont catalase(-) une colonie de la culture bactérienne sur MRS Gélosé est mise en contact avec de l'eau oxygénée sur une lame. La catalase est une enzyme qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène :



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

II.5. Évaluation des aptitudes technologiques chez les souches lactiques

II.5.1 Le pouvoir acidifiant

Ce test est réalisé pour mettre en évidence la capacité d'une culture inoculée sur milieu standard (lait pasteurisé), à produire une grande quantité d'acide lactique (Larpen, 1997). Il consiste en la préparation de milieu lait écrémé à 10% dans un flacons de capacité 250ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, le flacon estensemencé par une culture lactique. Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 0h, 2h, 4h, 6h .8h et 24h; 10ml du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic en présence de 3 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larpen et Larpen , 1990). L'acidité est déterminée par la formule :

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

Où :

VNaOH: Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

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

II.5.2. Le Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose du milieu protéolytique (Agar au Lait écrémé) a été coulée, solidifiée et séchée. Ensuite les souches lactiques issues des pré-cultures de 18h, y sontensemencées par la technique des multipoints à l'aide de coton-tige, et les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24-48h. La protéolyse est révélée par l'apparition des zones claires autour des souches (Veuillemard., 1986).

II.5.3. Le Pouvoir lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur milieu gélosé à l'émulsion de jaune d'oeuf, Des spots de la culture jeune ont été déposés en surface de cette gélose à l'aide de coton-tige. Après une incubation à 37°C pendant 24-48h, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des spots (Guiraud, 2003).

II.5.4. Le Pouvoir texturant

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

II.5.5. Le pouvoir aromatisant

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

La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau ou la diffusion de la couleur rouge à la surface du milieu. Un VP positif signifie que la souche possède une voie

métabolique particulière pour la fermentation des hexoses, la voie butylène glycolique (Zourari *et al.*, 1992 ; Guessas., 2006).

II.5.6. Résistance aux antibiotiques

Pour réaliser ce test, un antibiogramme en milieu solide est réalisé, chaque souche, d'une culture jeune de 18h d'incubation à 37°C, est ensemencée en surface de la gélose MRS, déjà coulée et solidifiée. Chaque souche est testé vis-à-vis de cinq (5) disques d'antibiotiques respectivement : Colistine , Acide Nalidixique, Streptomycine , Sulfamide , Gentamicine, et ces derniers sont déposés à la surfaces des boites ensemencées par les souches lactiques. Après incubation à 37°C pendant 18h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Leroy *et al.*, 2007).

II.5.7. La thermo-résistance :

Ce test permet de mettre en évidence la résistance aux hautes températures. Après inoculation du bouillon MRS par les cultures jeunes des souches lactiques à testées, les tubes sont exposés aux températures 100°C, 65°C et 63°C, pendant 10 et 30 min au Bain marie et au bout de ce délai les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24-48h. la croissance est appréciée par la présence de trouble sur le milieu liquide et par croissance de colonies bactériennes sur milieu solides. (Rouisset et Bensoltane., 2006).

II.5.8. Interactions entre les souches:

Dans le but de constituer un ferment lactique mixte avec les souches de lactobacilles utilisés, une étude d'interaction entre les lactobacilles a été réalisé où les interactions positives correspondent à une symbiose entre les souches et les interactions négatives correspondent à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Choisy *et al.*, 1997).

Les dix (10) souches de lactobacilles ont servit pour réaliser ce test. La méthode décrite par Fleming *et al.* (1975) a été utilisée, les souches à tester ont été ensemencées en touche sur la gélose MRS préalablement coulée et solidifiée. On laisse sécher à température ambiante et, en parallèle, on inocule 7ml de la gélose MRS déjà fondue et refroidie à 39°C par 0.5ml de la souche indicatrice, le mélange est ensuite coulé à la surface de la gélose MRS ensemencée en touches. La symbiose est révélée par l'absence des zones d'inhibition par contre l'antagonisme se traduit par la présence de ces dernières après une incubation à 37°C pendant 24h. Les souches ayant une symbiose entre elles ont été choisies pour la reconstitution du ferment mixte.

II.5.8.1. Mise en évidence de quelques aptitudes technologiques la culture mixte:

Un ferment lactique mixte est constitué par les souches ayant une symbiose positive et ce dernier a été testé à son tour pour l'évaluation de quelques aptitudes technologiques à savoir: (pouvoir acidifiant , pouvoir protéolytique ,pouvoir aromatisant , la résistance au antibiotiques , pouvoir texturant et la thermorésistante) et les même protocoles qui on été utilisés sur les 10 souches séparément (LbNP , LbN1, LbN5 ,LbN9 ,LbN10 ,LbN11, LbN12, LbN13 , LbN 14, LbN 15), ils ont été réutilisé pour la culture mixte des souches de lactobacilles.

Partie III : Résultats et discussion

III.1.Examen macroscopique et microscopique

Les caractères culturaux des lactobacilles se présentent comme suite :

- ✓ Sur MRS bouillant : les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques.
- ✓ Sur MRS gélosé : les colonies se diffèrent d'une souche à une autre, les colonies des lactobacilles sont apparues de petite taille, allongées, régulière de couleurs blanchâtres et crémeuses (figure-04) .

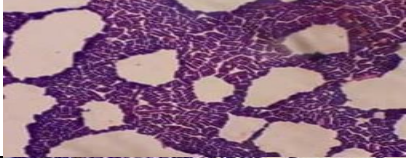
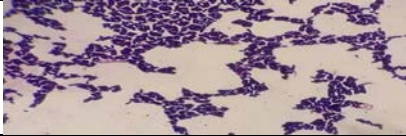
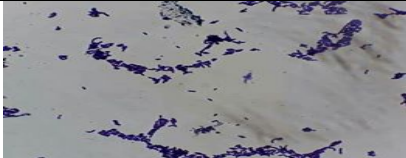



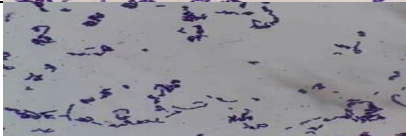



Les lactobacilles sont des cellules allongées , régulières en forme de bâtonnet ou coccobacilles isolées ou en chainettes de taille variable asporogènes , immobiles ou mobiles grâce a des flagelles piritriches (Stile et al .,1997) .



Figure 05 : Observation macroscopique des souches lactiques utilisées.

L'observation microscopique a révélé plusieurs formes de cellules ; bâtonnets (bacille) de différentes tailles. Ces formes sont disposées en paire, ou en chaînes plus ou moins longues. La coloration de Gram a confirmé que les souches sont Gram positif et le test de catalase était négatif. Ces caractéristiques confirment l'identité des souches lactiques comme lactobacilles. Les résultats de la caractérisation microscopique sont résumés dans le **tableau 05** .

Tableau 5: Caractères cultureux et microscopiques des bactéries lactiques utilisées

Souches	Température de croissance	Catalase	GRAM	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	37°C	-	+	
LBN1	37°C	-	+	
LBN5	37°C	-	+	
LBN9	37°C	-	+	
LBN10	37°C	-	+	
LBN11	37°C	-	+	
LBN12	37°C	-	+	
LBN13	37°C	-	+	
LBN14	37°C	-	+	
LBN15	37°C	-	+	

III.2. L'évaluation des aptitudes technologiques

III.2.1. Pouvoir acidifiant

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

Les résultats du suivi du pH et de l'acidité Dornic à 37°C pendant 24 heures sur milieu lait écrémé ensemencé à raison de (1%, v/v) par les souches pures ainsi que le ferment mixte reconstitué, sont représentés dans **les figures (5,6 et 7)**.

Les résultats obtenus montrent une très nette augmentation de la production d'acide lactique suivi d'une diminution du pH du lait progressivement chaque 02h pendant les 24 heures d'incubation. Toutes les souches sont classées comme souches ayant une vitesse de production d'acide lactique rapides selon la technique de **(Desjardin et al., 1991)** cité dans **(Riazi et Ziar.,2010)** ,(Voire **Tableau 6**).

En effet après 04h d'incubation le pH a baissé jusqu'à $4,65 \pm 0,3$ en moyenne chez toutes les souches et la quantité d'acide lactique produite a atteint en moyenne $10,7 \pm 2,3$ g/l. On note aussi qu'après 24 heures d'incubation, les quantités d'acide lactique ont doublé pour les souches (LbN09,LbN11,LbN12,LbN13,LbN15): respectivement (21.5 g/l; 20.3g/l; 20g/l; 20.7g/l ; 25g/l), ils sont en accord avec la quantité obtenue par la souche Témoin (*Lactobacillus plantarum*): 21.5g/l. Pour les souches LbN01; LbN05; LbN10 et LbN14, la production d'acide lactique était aussi rapide avec une acidité dornic entre [123°D -195°] qui correspond à [12.3g/l- 19.5g/l].

Ces résultats révèlent une production d'acide lactique très prononcée chez nos souches, et son en accord avec des résultats de plusieurs recherches qui démontre une très importante acidification par les souches de bactéries lactiques **Cogan (1980)** ;**Novel (1993)** et **(Champagne et al., (2000)**. Une étude de **Maghnia (2011)**, a montré un pouvoir acidifiant important des souches de lactobacilles avec une concentration d'acide lactique de 59°D et un pH de 3,99 après une incubation à 37°C pendant 24 h.

La culture mixte, révèle aussi une production d'acide lactique importante qui est inversement proportionnelle à l'évaluation du pH qui lui baisse progressivement en permettant une très bonne coagulation du milieu lait écrémé au bout de 24h d'incubation où le pH = 2, la

vitesse d'acidification était très rapide ($\Delta\text{PH}=4,3$), et la quantité d'acide lactique était de 10.9 g/l après 24h. Cette différence de production entre les cultures pures et la culture mixte peut être expliquée par; la non maîtrise des proportions et des propriétés entre les souches pour la constitution du ferment mixte.

Figure 06: Cinétique d'évaluation du PH des souches lactiques au cours du temps

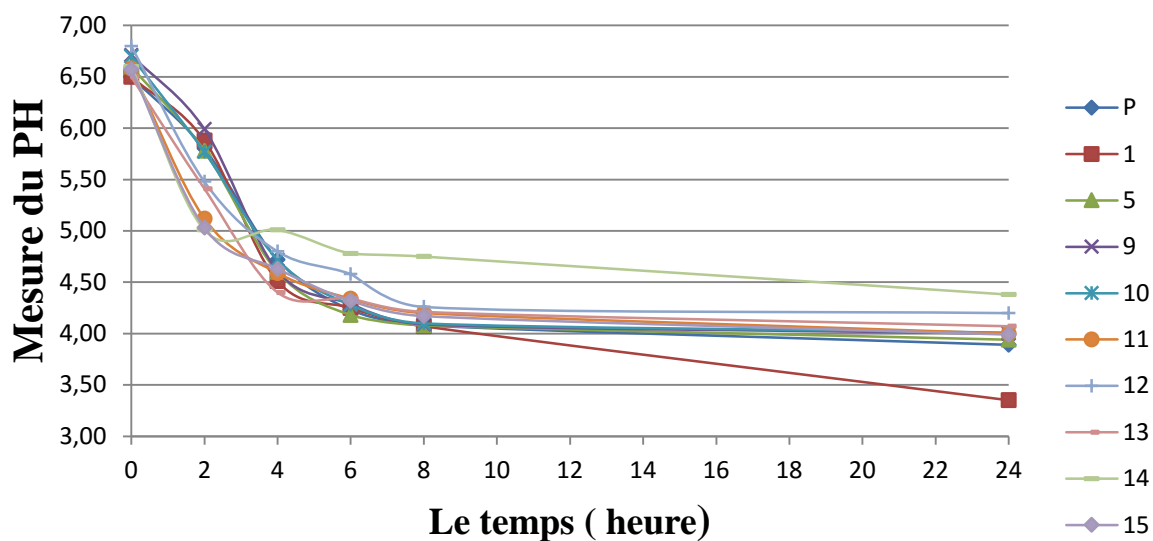
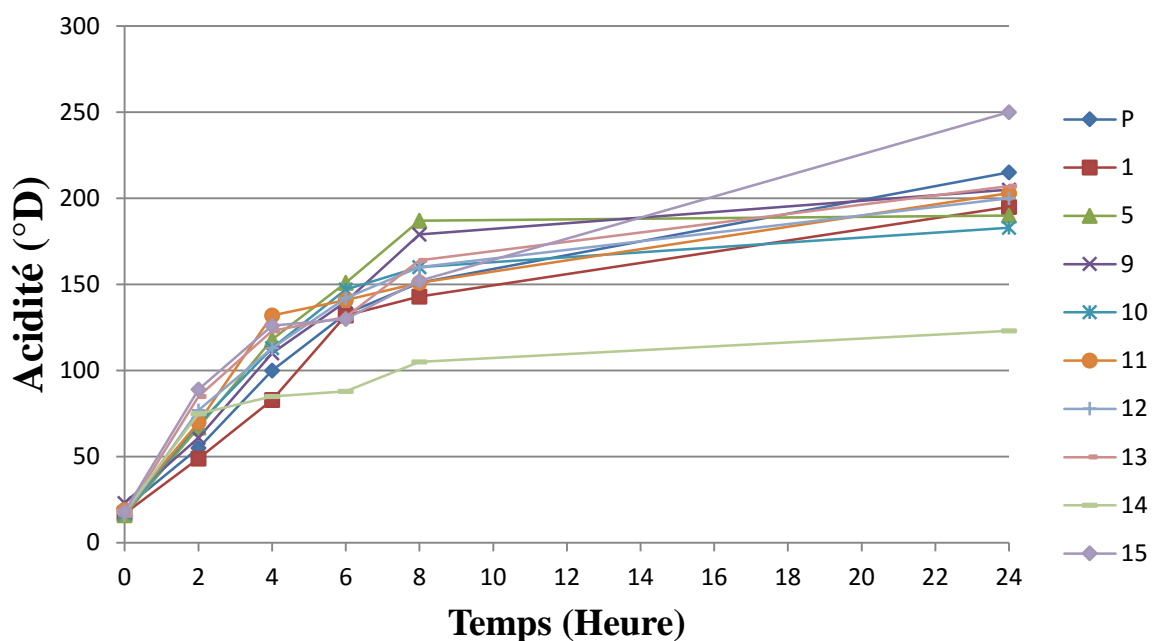


Figure 07: Evaluation de la production d'acide lactiques par les souches lactiques



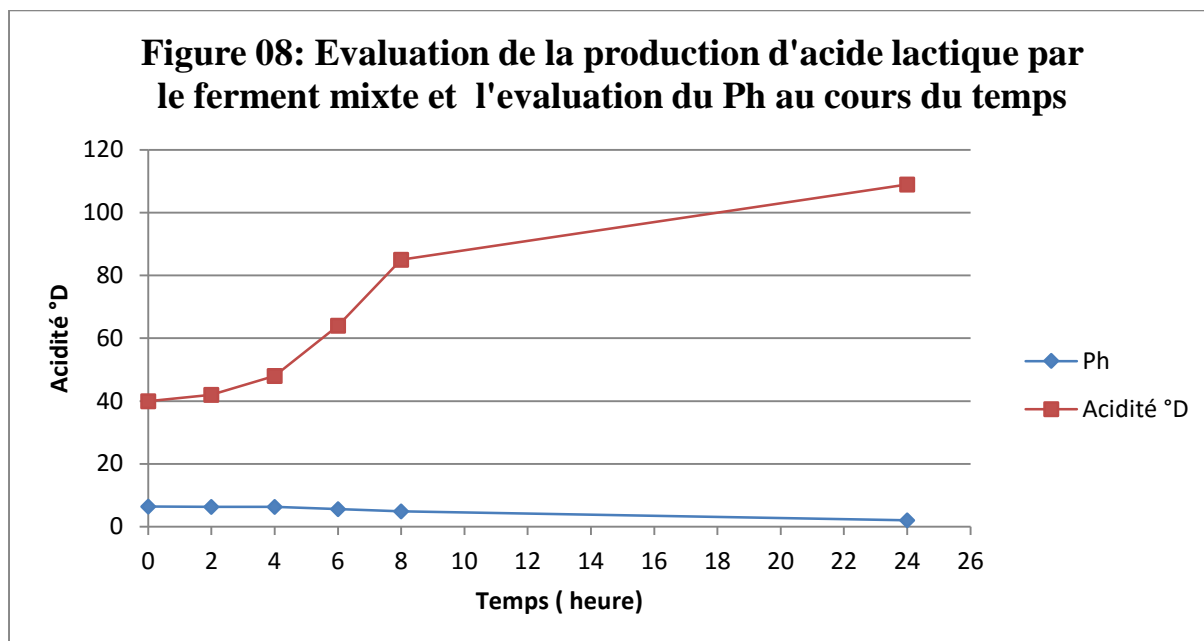


Tableau 6 : Evaluation de la vitesse de production d'acide lactique (Δ Ph) chez les souches de lactobacilles utilisées.

Souche	Δ Ph = 4h	Evaluation après 04h	Δ Ph = 24h	Evaluation après 24h
LBN01	1.9	Rapide	3.1	Rapide
LBN05	02	Rapide	2.6	Rapide
LBN09	2.1	Rapide	2.7	Rapide
LBN10	1.9	Rapide	2.6	Rapide
LBN11	1.9	Rapide	2.5	Rapide
LBN12	02	Rapide	2.6	Rapide
LBN13	2.1	Rapide	2.4	Rapide
LBN14	1.5	Moyenne	2.2	Rapide
LBN15	1.9	Rapide	2.8	Rapide
LBN P	1.7	Rapide	2.6	Rapide

Δ ph <1 acidification lente. $1 < \Delta$ Ph < 1.5 acidification moyenne, Δ Ph > 1.5 acidification rapide .

III.2.2. Pouvoir protéolytique

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

La plupart des souches étudiées présentent une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des souches de lactobacilles testées et les résultats obtenus sont représentés par la **figure 09**. Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau7** .

Tableau 7 : Diamètres de protéolyse par les souches lactiques testées (en mm)

Les souches	protéolyse	Diamètres (mm)
LBN1	+++	15
LBN5	+++	15
LBN9	+	6
LBN10	++	11
LBN11	++	12
LBN12	-	/
LBN13	-	/
LBN14	+++	14
LBN15	+++	14
Ferment mixte	+++	22

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

L'activité protéolytique est variable d'une souche à l'autre; et les meilleurs zones de protéolyse sont obtenus chez les souches LbN01;05; 14, et LbN15 avec un niveau élevé de protéolyse entre (14-15 mm); et les souches LbN10 et LbN11 ont présentés une protéolyse moyenne avec (11 et 12 mm); LbN09 est faiblement protéolytique avec une zone de (6 mm de diamètre); et les souches LbN13 et LbN12 sont considérer comme non protéolytique car elles n'ont pas du tout présenté de zones claires.

Les travaux de **Litopoulo-Tzanetaki et Tzanetakis (2011)**, ont montré que l'activité protéolytique est largement dues aux lactobacilles. Selon (**Castberg et Morris., 1976**), les lactobacilles produisent généralement des protéinases neutres actives sur le α -, β et κ - caséine mais l'intensité de leur activité est extrêmement variable d'une espèce à une autre.

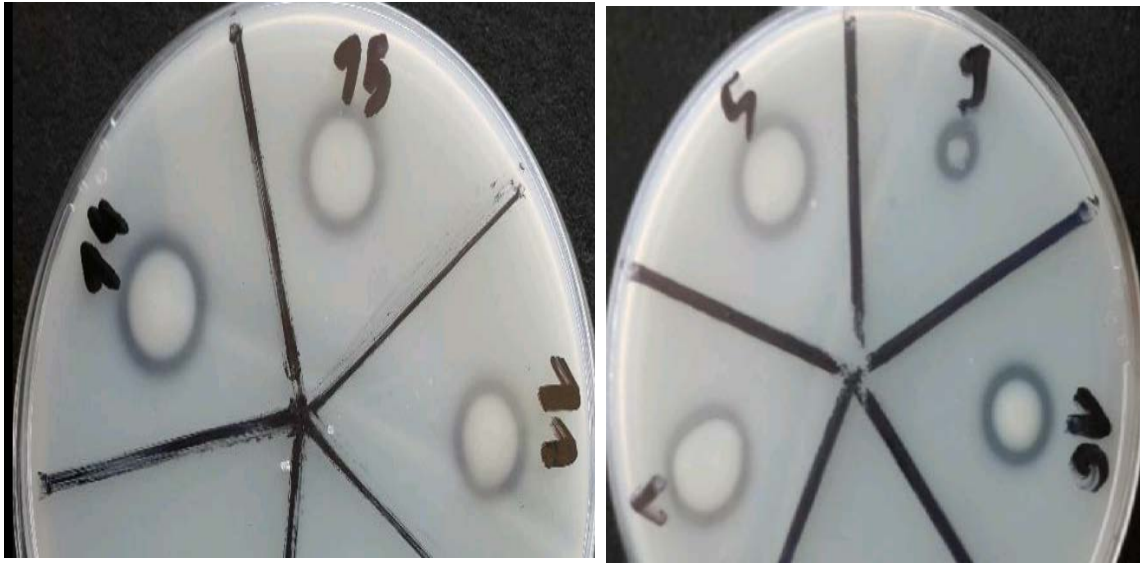


Figure 9: Photos des zones de protéolyse chez les souches lactiques protéolytiques sur milieu agar au lait écrémé;

L'activité protéolytique du ferment mixte a été aussi recherchée sur gélose additionnée de lait écrémé à 10% (p/v). Après incubation, cette activité s'est manifestée par l'apparition d'un halo clair autour de colonie (**figure 10**). Le ferment a exprimé une activité protéolytique importante plus de 20mm. Toutefois, il est important de garder à l'esprit que les souches très protéolytiques ne sont pas toujours les plus appropriées pour servir comme ferments lactiques.

En effet , une protéolyse excessive peut entraîner la production incontrôlée de peptides amers et autres composés indésirables (**Buffa et al.,2005**). L'activité protéolytique dépend en partie de la composition chimique du milieu de culture (**Zadi-Karam, 1998 ; Drici,2000 ; Hassaine, 2013**).

D'autres travaux ont démontré aussi l'existence d'une relation directe entre l'expression de cette activité protéolytique et la composition du milieu de culture et particulièrement sa teneur en peptides libres (**Marugg et al.,1995 ; Meijer et al., 1996**).



Figure10: Activité protéolytique du ferment mixtes
sur milieu agar au lait écrémé

III.2.3. Pouvoir lipolytique

Les résultats obtenus pour ce tests sont illustrés dans **la figure 11**. Il apparaît que toutes les souches lactiques présentent une activité lipolytique positive en formant des zones d'éclaircissement autour des spots des cultures. ces résultats sont en accord avec ceux de **Xanthopoulos et al. (2000)** qui ont démontré que *Lb. plantarum* présente des activités lipolytiques et peptidolytiques .

D'autre travaux de **Fernandez et al. (2000)**, disent que l'activité estérasique n'est pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques ni dans un milieu synthétique, ni dans du lait écrémé ou entier.

Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytiques (**DeRoissart et Luquet., 1994**), par comparaison avec d'autres espèces bactériennes. Cependant leur présence dans les fromages à des concentrations élevées et pendant des périodes plus ou moins importantes, peut les amener à libérer des quantités non négligeables d'acides gras libres (**Das et al.,2005**).



Figure11 : activité lipolytique sur milieu à l'émulsion de jaune d'œuf

III.2.4. Pouvoir texturant

Afin d'évaluer la capacité de production des EPS chez nos souches; leurs croissances sur gélose hyper-saccharosés a été mise en évidence, et la production des exopolysaccharides est traduite par l'apparition de colonies larges et gluantes. Les résultats sont illustrés dans la **Figure 12**.

Les résultats obtenus démontrent clairement une bonne croissance des souches sur le milieu hyper saccharosé, mais l'aspect des colonies a démontré un pouvoir faible à nulle en production d'EPS vu que l'aspect large et gluant des colonies était absent. Ces observations rejoignent les travaux de **Looijesteijn et al., (2001)** qui ont rapporté qu'au sein d'une même espèce de bactéries lactiques, les résultats peuvent être différents et ont pu identifier des souches productrices d'EPS (voire fortement) et d'autres souches non productrices (ou faible) sans que ce caractère n'engendre des disparités de croissance.

La production des EPS par les bactéries lactiques est un phénomène favorable à de nombreux processus industriels alimentaires (**Walling et al., 2001**). Le principal intérêt de l'utilisation de bactéries lactiques productrices d'EPS dans les ferments lactiques lors de la production de laits fermentés est l'amélioration de la texture du produit fini, et selon (**Patel et al., (2012)**), les fromages fabriqués par utilisation de cultures productrices d'EPS deviennent

lisses, crémeuses, humides et doux tandis que ceux fabriqués sans ajout de souches productrices d'EPS se trouvent sec et granuleux (Patel *et al.* ; 2012).

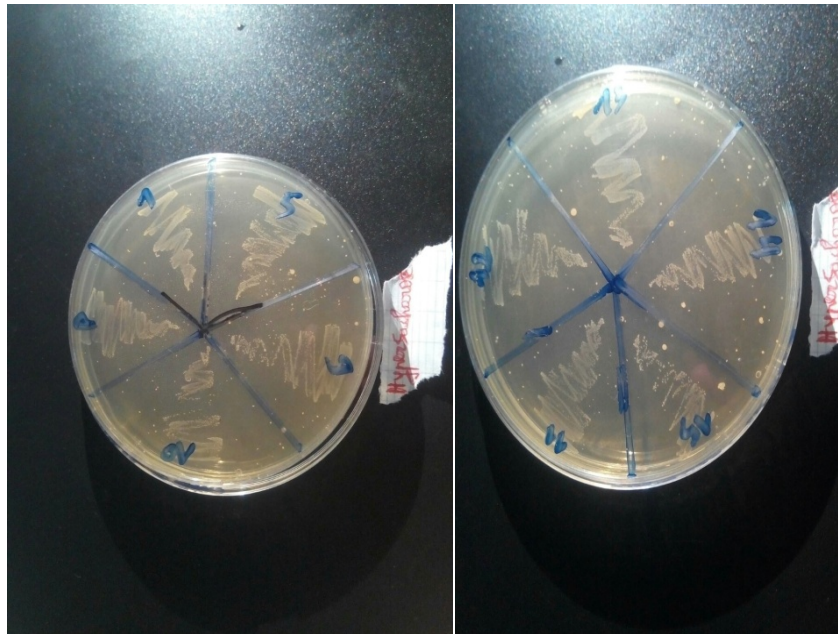


Figure12 : Aspect des colonies sur milieu hyper-saccharosé

III.2.5. Pouvoir aromatisant

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 13. D'après les résultats nous remarquons que La souche P présente une production importante d'acétoïne d'où une coloration intense du milieu Clark et Lubs.

Les souches LbN01,et LbN15 sont incapables de produire l'acétoïne d'où l'absence de la couleur rose dans le milieu. Les souches : LbN05,09 10,11,12,13et LbN14 sont doués d'un pouvoir aromatisant avec une intensité qui diffère selon la souche considéré. Pour le ferment mixte, les résultats enregistrés révèlent que le ferment reconstitués est producteurs d'acétoïne, donc il a un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques des produits fermentés. Ces résultats se rapprochent de ceux de Montville *et al.*, (1987), qui ont montré la production d'acétoïne chez par *Lb.plantarum*.

En effet selon Hammes et Hertel (2006), les lactobacilles peuvent participer à la fermentation malolactique, ils peuvent également métaboliser le citrate et le pyruvate, produisant l'acétate, le lactate et l'acétoïne. La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. Le développement d'arôme dans le lait résulte aussi des activités métaboliques des bactéries lactiques (glycolyse, lipolyse et protéolyse) (Marilley Et Casey, 2004).

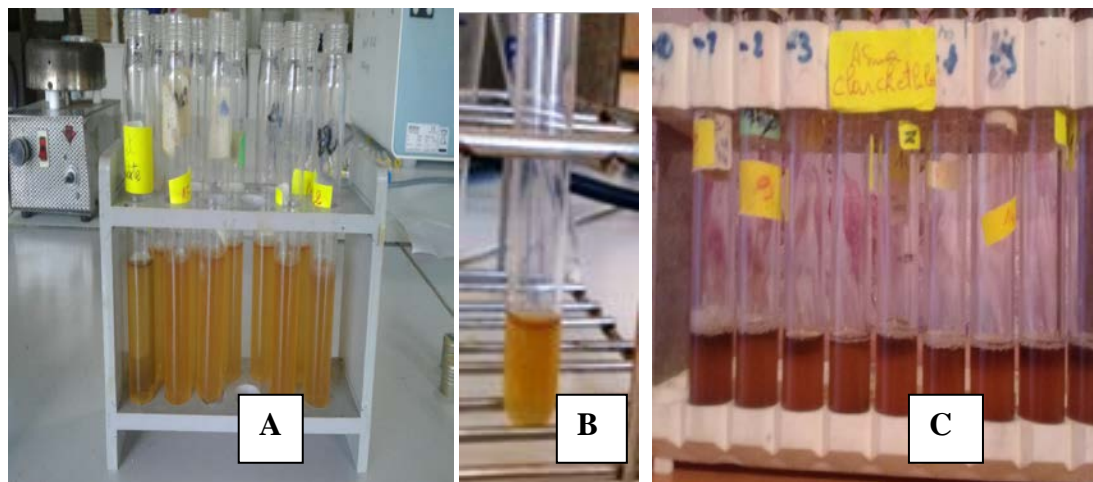


Figure 13 : Production de l'acétoïne par les bactéries lactique: A. les cultures sans réactif vp1/vp2; B. Témoin + réactif vp1/vp2; C. les cultures +réactif vp1/vp2

III.2.6. Résistance aux antibiotiques

Les résultats de la résistance et la sensibilité des souches aux antibiotiques sont groupés dans la **figure 14**. Les souches présentant une zone d'inhibition sont considérées comme sensibles. Les résultats obtenus montrent que les souches LbN05, LbN9 et LbN11 sont résistantes à tous les antibiotiques testés (Colistine, Acide, Nalidixique, Stréptomycine, Sulfamides, Gentamicine) et les souches : LbN01, LbN10, LbN12, LbN13, LbN14 et Lbn15 ainsi que la culture du ferment mixte ont présenté une sensibilité pour un seule antibiotique : La Colistine.

Plusieurs études ont montré la résistance naturelle d'une gamme importante de bactéries lactiques aux antibiotiques (Botes et al.,2008). Il est nécessaire avant de lancer une culture

probiotique de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne contiennent pas des gènes de résistance aux antibiotiques (Ammor et Mayo., 2007).

Selon Donohue (2004), le criblage de telles souches pour la reconstitution de ferments lactiques n'est pas encore entrepris actuellement, à cause de la difficulté de l'évaluation in vitro du potentiel de transfert de gènes de résistance.



Figure14 : Antibiogramme des souches lactiques et ferment mixte

III.2.7. Pouvoir de thermo-résistance

L'emploi de ce test permet d'évaluer la résistance des souches aux différentes températures élevées; Après inoculation du bouillon MRS par les cultures jeunes (culture de 18h) , les tubes sont incubés pendant 10 min et 30min aux températures de 63, 65 et 100° C et les résultats sont reportés dans **le tableau 08**.

D'après les résultats obtenus, la majorité des souches testées sont considérées résistantes aux températures de 63°C et 65°C après 10 min d'exposition, par contre ils n'ont pas présenté une résistance à 100°C (après 30min). Le ferment mixte a bien résisté aussi aux traitements thermiques au bain marie à 63, 65,100°C pendant 10 minutes, après 24 h d'incubation.

Selon Tailliez, (2004), la plupart des lactobacilles se multiplient dans une gamme de températures comprise entre 15 °C et 42 °C. Certaines souches de lactobacilles dites « thermorésistante » restent viables à 55 °C.

Tableau 8 : Croissance des souches lactiques aux températures: 63°C; 65°C; et 100°C

Les souches	Thermorésistance à (63°C)	Thermorésistance à (65°C)	Thermorésistance à (100°C)
LBn1	+	+	-
LBn5	+	+	-
LBn9	+	+	-
LBn10	+	+	-
LBn11	+	+	-
LBn12	+	+	-
LBn13	+	+	-
LBn14	+	+	-
LBn15	+	+	-
Ferment mixte	+	+	+
<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	+	-

III.2.8. Interaction entre les souches

Les résultats des interactions montrent que la majorité des souches lactiques testées sont symbiotiques entre elles où la plupart des boîtes d'interactions n'ont montré aucune présence d'halot claire autour des disques qui pourrait traduire une inhibition de croissance. Ces résultats nous permettent de combiner les souches lactiques étudiées pour obtenir un ferment mixte utilisé ultérieurement.

Il est assez rare que l'on utilise pour la fabrication des produits laitiers une seule souche de bactéries lactiques. En règle générale, on associe plusieurs souches, voir plusieurs espèces et genres bactériens (Juillard *et al.*, 1987).



figure 15 : Interactions entre les souches lactiques.

CONCLUSION

Conclusion

Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers. Elles ont un intérêt industriel tout particulier, où elles sont utilisées pour améliorer les caractères organoleptiques de différents produits alimentaires (le goût, la saveur, la texture, l'arôme de produits par exemple le lait fermenté, le yaourt, le fromage, le pain et les produits carnés...etc.)

Au cours de cette étude, dix souches appartenant au genre *Lactobacillus* ont fait l'objet d'une évaluation *in vitro* de leurs aptitudes technologiques à savoir: Le suivi du pouvoir acidifiant de la production d'acide lactique, l'activité protéolytique, lipolytique, le pouvoir de production de molécules aromatiques, la croissance sur milieu hyper-saccharose (production d'EPS); et enfin l'antibiogramme et la Thermo-résistance.

Les souches (LbN09; LbN11; LbN15) étaient les plus performantes en production d'acide lactique, cette acidité produite stimule la coagulation du lait et même la conservation de nombreux aliments, présentent un pouvoir protéolytique très important et produisent aussi de l'acétoïne; hydrolyse les lipides (lécithinase), ce qui contribue à l'aromatisation des produits laitiers et présentent une croissance sur milieu hyper saccharose sans la présence d'aspect large et gluant pour les colonies.

Les souches (LbN01; LbN05; LbN11; LbN12; LbN13; LbN14), ainsi que la souche témoin ont présenté aussi des réactions variables entre les différents tests selon la souche et le test considérés. Le ferment mixte quand à lui, en le comparant aux activités des cultures pures; il a aussi présenté des résultats considérables mais qui doivent être plus maîtrisés dans le futur.

Les souches étudiées sont de bonnes candidates car elles montrent des comportements remarquables vis-à-vis de tous les tests réalisés lors de ce travail, donc elles doivent faire l'objet d'une étude plus poussée pour la caractérisation des différents critères de sélection des ferments lactiques pour pouvoir être destinés à l'utilisation comme cultures starters en industrie des aliments fermentés.

Références Bibliographiques

A

Ali Riazi , Hasnia Ziar .2010. Croissance et viabilité des bifidobactéries dans le lait écrémé additionné de miel d'abeille. revue « nature et technologie ». N° 02/janvier 2010. Pages 17 à 24.

Alice A. & Sanchez-Rivas C. (1997). DNA supercoiling and osmoresistance in *Bacillus subtilis* 168. *Current Microbiology*, 35:309-315.

Amatayakul T., Halmos A.L., Sherkat F. And Shah N.P., 2006. Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International dairy journal*. vol. 16, 40-51.

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*. 76 : 138-146.

Avril D. And Denis M. 1992. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie leeuwenhoek*. J. 70: 331-345.

Axelsson L.T. (2004). Lactic acid bacteria : classification and physiologie. In *lactic acid bacteria – microbiologie and functional aspects*, edited by s. Salminen, s. Von wright, a. And ouwehand a. (eds), marcel dekker, inc.633. Pp 1-66.

B

Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "arabie et kabyle». *Scien &tech*, 23 : 30-37.

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.

Belyagoubi L., 2014. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de doctorat en biologie. université aboubakrbelkaïd-tlemcen. 170p..

Botes M., Van Reenen C.A. Et Dicks L.M.T., 2008. Evaluation of enterococcus mundtii st4sa and lactobacillus plantarum 423 as probiotiques by using a gastro-intestinal model with infant milk formulations as substrate. *Int. J. Food microbiol*. 128 : 362-370.

Bourgeois C.M. Et Larpent J.P., 1996. Microbiologie alimentaire : aliments fermentés et fermentations alimentaires. tec & doc, lavoisier. Paris. 432-704.

Buffa M, Morais J, Jiménez-Belenguer A, Herdlindez-Giménez E Et Guamis B. (2005). Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from raw ewe's milk for cheese making. Milchwissenschaft. 61, 404-407.

C

Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. Et Reinheimer J., 2010. Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In: biotechnology of lactic acid bacteria : novel applications (mozzi f., raya r.r. Et vignolo g.m.). 177-192.

Casalta E., Vassal Y., Desmazeaud M.J. And Casabianca F., 1995. Comparison of the acidifying activity of lactococcus lactis isolated from corsican goat milk and cheese. Food science and technology-lebensmittel-wissenschaft & technology 28, 291-299.

Castberg H.B. And Morris H.A., 1976. Degradation of milk proteins by enzymes from lactic acid bacteria used in cheese-making. A review. Milchwissenschaft 31: 85-90.

Chamba F.J., 2008. Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In bactéries lactiques de la génétique aux ferments (corrieu g. Et luquet f.m.). Tec & doc, lavoisier.paris. 787-813 .

Chavarri E.J., Nunez J.A. And Nunez M., 1983. Behavior of streptococcus lactis in heat treated (80 °c for 30 min) or sterilized cow's or ewe's milk. Journal of dairy research,50, 357-363.

Choisy C., Desmazeaud M., Guéguen M., Lenoir J., Schmidt J. L. Et Tourneur C., 1997. Les phénomènes microbiens. In : le fromage (eck a. Et gillis j.c.). Tec & doc, lavoisier. Paris. 377-446.

Cogan M.T ., Dowd O Et Mellerick D 1981. Effects of ph and sugar on acétoine from Citrate by leuconstoc lactis.

Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J. Et Wallbanks S., 1993. Taxonomic studies of some leuconostoc like organisms from fermented sausages, description of a new genus weissella for the leuconostoc paramesenteroides group of species. J. Appl. Bacteriol. (75) : 595- 603.

D

Das, S., Holland, R., Crow, V. L., Bennett, R. J. Et Manderson, G. J., 2005. Effect of yeast and bacterial adjuncts on the cla content and flavour of a washed-curd, dry-salted cheese. Int. Dairy journal. 15: 807-815 .

Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. Et Janssens D.,1994.caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : bactéries lactiques (de roissard h. Et luquet f.m.).

Lorica, uriage. 1 : 25-116.

Denohue D.C., 2004. Safety of novel probiotic bacteria. In: lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (salminen s., wright a.v. Et ouwehand a.). 3e ed., marcel dekker, inc. New york. 531-546.

Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. And Shaha N.P., 2007. Proteolytic activity of Dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and invitro angiotensin Converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. Inra, edp sciences.86: 21-38.

Drici H. (2001). Etude biochimique de la protéolyse chez lactococcus lactis Subsp.diacetylactis et recherche du support génétique des protéases. Thèse de Magister:université d'oran-sénia.

Durlu-Özkayaf., Aslim B. And Taha Ozkaya M., 2007. Effect of exopolysaccharides (eps) produced by lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. Lwt -food science and technology. Vol.40, 564-568.

E

Ennadirj., Hassikou R., Al Askari G., Arahou M., Bouazza F., Amallah L., Amine S. A., Khedid K., (2014). Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypic and genotypic characterization of Lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco) .J.Mater. Environ.Sci.5 (4). Pp1125-1132.

F

FARKYE N.Y., MADKOR S.A. and ATKINS H.G., 1995. Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in a model cheese system. Int Dairy J 5: 715-725.

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., Etechells J.L. Et Costilow R.N., 1975. Microbial inhibition of isolates of pediococcus from cucumber brine. Appl. Env. Microbiol. 30 : 1040-1042.

G

Galvez A. (2012). Characterization of lactic bacteria from naturally fermented manzanilla,alorena gveen table olives. Food microbiology. 32, 308-316.

Guessas B., Hadadji M., Saidi 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. Et Rosec J.P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. 237-251.

H

Hammes,W.P And Hertel.C.,2006. The genera lactobacillus and carnobacterium.chap. 1.2.10. In prokaryotes. 4: 320-403.

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.

Hikmate A, Benour N, Antonio C, Caballero N, Miguel Aff,Prévez-Pulido R,Galvez A. (2012). Characterization of lactic bacteria from naturally fermented manzanilla alorena gveen table olives. Food microbiology. 32, 308-316.

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.

J

Juillard V., Spinnler H.E., Desmazeaud M.J. Et Boquien C.Y., 1987. Phénomènes de coopération et inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. Le lait. 67 : 149-172.

K

Kandler, O., 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 49 : 209-224.

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

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

L

Labaoui H, Elmoualdi L, El Yahiaoui M Et Ouhssine M. (2005). Sélection de souches des bactéries lactiques antibactérienne. *Bal doc d'Parm.* Bordeaux, 144, 237-250.

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

Lamontagne Michel Claud P., Reitz A., Sylvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J Et Ismail F. (2002). *Microbiologie de lait. science et technologie de lait.* Ecole polytechnique de Montréal.

Lane C.N. And Fox P.F., 1996. Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening. *International dairy journal.* 6, 7, 715-728.

Larpent J.P. And Larpent G.M., 1990. *Mémento technique de microbiologie* 2ème ed. technique et documentaire Lavoisier, Paris, p: 417.

Larpent SP. (1997). *Microbiologie alimentaire.* Tec & doc, Lavoisier. Paris. 10-72..

Law J Et Haandrikman, A., 1997. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int dairy j.* 7 : 1-11.

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

Leclerc H., Gaillard F L. Et Simonet M., 1994. Les grands groupes de bactéries. In : *microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien.* Doin. Paris. 445. *Leeuwenhoek. J.* 70: 331-345.

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.

Leroy S., Lebert I., Chacornac J.P., Chevalier I. Et Talon R., 2007. Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique : bactéries lactiques et staphylocoques a coagulase négative. Sci. Tec. V. Prod. Carnés. 25(5) : 172.

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

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

Litopoulou-Tzanetaki E. And Tzanetakis N., 2011. Microbiological characteristics of greek traditional cheeses. Small ruminant research 101. 17– 32.

Looijesteijn P.J., Trapel L., De Vries E., Abee T. Et Hugenholtz J., 2001.

Physiological function of exopolysaccharides produced by lactococcus lactis. Int. J. Food microbiol 64 : 71- 80.

Lynch C.M., Mc Sweeney P.L.H., Fox P.F., Cogan T.M. And Drinan F.D., 1997. contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. Lait 77, 441-459.

M

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

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

Marilley L. And Casey M.G., 2004. Review article: flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. International journal of food microbiology 90 : 139– 159.

Marugg Jd, Meijer W, Van Kranenburg R, Laverman P, Uineberg Br, De Vos Wm.(1995). Medium-dependent regulation of proteinase gene expression in Lactococcuslactis : Control of transcription initiation by specific dipeptides. J Bacteriol. Vol 177:2982-2989.

Matamoros S., 2008. Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Etude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de nantes.189p.

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

Meijer Wc, Marrug Jd, Hugenholtz J. (1996). Regulation of proteolytic enzyme activity in lactococcus lactis. Appl environ microbiol. Vol 62: 156-161.

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 (corrieu g. Et luquet f.m.). Tec & doc, lavoisier. Paris. 512-592.

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 mrcrobtologwal methods 7: 1- 8.

N

Novel G., 1993. Les bactéries lactiques in microbiologie industrielle les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau j-y., bouix m. Tec & doc, lavoisier, pp : 170-374 .

O

Orla-Jensen S., 1919. The lactic acid bacteria. A.f. hostand son, koenighichen hof-boghandel, copenhagen.

Ortiz De Apodaca M.J., Selgas M.D. And Ordoiiez J.A., 1993. Lipolytic and proteolytic activities of micrococci isolated from cheese. Food research international. 26:319-325.

P

Patel S., Majumder A. And Goyal A., 2012. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. Indian j microbiol. 52(1):3-12.

Pilet M.F., Magras C., Federigh M., 2005. Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire,(Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.

Prioult G 2003 : Effet des probiotiques sur l'induction et le mentien de la tolerance orale a la β -lactoglobuline chez les souris et etude de leur mecanisme d'action .these ph d . Faculte des sciences de l'agreculture et de l'alimentation .universite laval, quebec , pq , canada .

R

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

Roissard Et Luquet .1985. Les bactéries lactiques edition lorisa , volume 1,luquet f . M, lait et produits laitiers , tec et doc , edition lavoisier , paris ,p362-400-402.

Roissart H 1986 . Bactéries lactiques , p .343.in f.m luquet (ed) , laits et produits laitiers : vache ,berbis , chèvre , vol .3.lavoisier ,paris.

Roissart, H Et Luquet , Fm. (1994). Bactéries lactiques, i et ii ; lorica (chemin de saint georges), f38410, france.

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

Rouissat L. And Bensoltane A., 2006. Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of algerian tow breeds (ouled djellal and el hamra). *Egypt. J. App. Sci.* 21: (2b), 567-582.

Ruas-Madiedo P., Alting A.C. And Zoon P., 2005. Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* strains on the viscosity and structure of fermented milks. *International dairy journal.* Vol. 15, 155-164.

Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J. And Zoon P., 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International dairy journal.* Vol. 12, 163-171.

S

Serhan M., Cailliez-Grimal C., Borges F., Revol-Junelles A.M., Hosri C. Et Fanni J.,2009 .bacterial diversity of darfiyeh, a lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food microbiol.*26 : 645-652.

Siegumfeldt H., Rechinger K.B. And Jakobsen M., 2000. Dynamic changes of intracellular ph in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular ph. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.

Singleton, P. 1999. bactériologie. 4eme edition. Dunod, paris. 317 pages.

Stiles M.E. And Holzapfel W.H., 1997. Review article lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food microbiol. 36: 1-29.

Streit F., Corrieu G. Et Béal C., 2007. Acidification improves cryotolerance of lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus cfl1. J. Biotechnol. 128 : 659-667.

T

Tailliez P., 2004. Les lactobacilles : proprietes, habitats, role physiologique et interet en sante humaine. Actualites microbiologiques. 35-41.

Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: dairy microbiology handbook (robinson r.k.). 3e ed., john wiley and sons, inc., new york. 261-366.

V

Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. Et Swwings J., 1996.

Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbiol. Rev. 60 : 407.

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

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

W

Walling E.G., Indreau E. Et Lonvaud-Funel A., 2001. La biosynthèse d'exopolysaccharide par des souches de pediococcus damnosus isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection. Inra. 289-300.

Welman A.D. And Maddox I.S., 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. Trends in biotechnology. Vol. 21, 269-274.

Wouters J.T.M., Ayad E.H.E., Hugenholtz J. Et Smit G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. Int. Dairy j. 12 : 91-109.

X

Xanthopoulos D, Petridis N, Tzanetakis. (2001). Characterization and classification of streptococcus thermophilus and lactobacillus delbruckii subsp. Bulgaricus strains isolated from traditional greek yoyurts. Journal of food science. 1365-2621.

Z

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

Zourari A., Accolas J.P. And Desmazeaud M.J., 1992. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. Lait. 72: 1-34.

Annexes

Annexe I:

Les milieux de culture

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

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

pH= 6.5±0.2 à 37°C

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ Le milieu lait écrémé:

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

➤ La solution NAOH pour le titrage:

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

➤ Le milieu Agar au lait écrémé:

Compositiong/l

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

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

➤ **Gélose ordinaire GN additionée d'emulsion de jaune d'œuf :**

Compositiong/l

Emulsion du jaune d'œuf.....	1/2
Peptone	15g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	02g
Chlorure de sodium	05g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

pH =6,8-7,4

➤ **Le milieu hyper saccharosé :**

Compositiong/l

Extrait de viande	10g
Extrait de levure	3g
Peptone	2.5g
Saccharose	150g
K ₂ HPO ₄	2g
NaCl.....	1g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.2g
Agar	15g
Eau distillée qsp	1000ml

pH= 6,8

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

➤ **Le milieu Clark et Lubs**

Compositiong/l

Peptone trypsique ou poly peptone5 – 7 g
Glucose 5 g
Phosphate dipotassique5 g
Eau distillée q.s.p1000 ml
pH =7
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Annexe II:

Les étapes de la coloration de Gram

Annexe III : 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 à l'objectif (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

Résumé :

Le présent travail vise à la mise en évidence des aptitudes technologiques chez dix souches lactiques qui sont déjà isolées à partir de lait de vache, à savoir: Le pouvoir acidifiant, protéolytique, et lipolytique; la production d'acétoine et d'EPS; et la résistance aux antibiotiques et à la chaleur . La majorité des souches sont des bacilles appartenant au genre *Lactobacillus* sp. Un essai de culture mixte est réalisé après un test d'interaction entre les souches et qui est évalué en même temps que les cultures pures. Les souches (LbN09,LbN11et LbN15) sont les plus performantes avec un pouvoir acidifiant remarquables, dont les quantités très élevés en acide lactique [20g/l-25g/l] et le ferment mixte avec 10,9 g/l. L'activité protéolytique et lipolytique s'est révélé intéressante ainsi que la production d'acétoine. toutes les souches résistent aux températures de 63°C et 65°C et non à 100°C. Pour le test d'antibiogramme la résistance chez les souches est observé pour toute la gamme d'antibiotiques utilisée sauf pour la Colistine dont la sensibilité est variable selon la souche considéré. Ces souches révèlent de bonne propriétés technologiques (texture, aromatisation, et coagulation) qui peuvent être exploitées dans l'industrie laitière.

Mots clés : bactéries lactiques, lactobacilles, aptitudes technologiques, ferment lactique.

Abstract :

The present work aims to exhibits the technological abilities of ten lactic acid strains, already isolated from cow's milk, as :lactic acid production, proteolytic and lipolytic potency; production of acetoin and EPS; and antibiotics and heat resistant. All strains belong to the genus of *Lactobacillus* sp. A mixed culture is obtained after interaction test between the strains in order to be evaluated at the same time with the pure cultures. The strains (LbN09, LbN11 and LbN15) are the most powerful and have a high power of lactic acid production: [20g / l-25g / l], also the mixed ferment also showed a good production with 10.9 g / l of lactic acid. Proteolytic and lipolytic activity was interesting and variable according to the considered strain as well as the production of acetoin. all strains are resistant to temperatures of 63 ° C and 65 ° C but not for 100 ° C. About Antibiogram test, the strain resistance is observed for the whole range of antibiotics used except for Colistine. These strains showed interested technological abilities (texture, aromatization, and coagulation) that can be exploited in the dairy industry.

Key words: lactic acid bacteria, lactobacilli, technological abilities, lactic ferment .

يهدف هذا العمل الى دراسة مجموعة من الكفاءات التكنولوجية عند عشر بكتيريات لبنية وذلك بتقييم قدرتها على انتاج حمض اللاكتيك، تحليل بروتين الحليب الكازيين، تحليل الدهون، انتاج الاسيتوين و قدرتها على مقاومة بعض المضادات الحيوية ودرجات حرارة عالية. اغلب البكتيريا اللبنة المستعملة هي من نوع سلالة العصيات اللبنة. بعد انجاز الاختبارات التجريبية تم التعرف على ان السلالات المستعملة لديها قدرة على انتاج كميات معتبرة و كبيرة من حمض اللاكتيك تتراوح ما بين 20 الى 25 غرام في اللتر ومن خلال اختبار تعايش السلالات فيما بينها تم تركيب خليط لبني متركب من السلالات المستعملة والذي قمنا ايضا باختباره في نفس الوقت مع السلالات الاخرى وكانت كمية حمض اللاكتيك المتحصل عليها تقدر ب 10,9 غرام في التتر. اما بالنسبة للتجارب تحليل البروتينات والدهون فكانت النتائج ايجابية وتختلف باختلاف السلالة وتميزت ايضا بإنتاج مادة الاسيتوين وقاومت درجات الحرارة (63,65 درجة) ماعدا 100 درجة. واخيرا بالنسبة للحساسية اتجاه المضادات الحيوية فكانت اغلبية السلالات غير حساسة ماعدا نحو الكوليستين . توصلنا الى ان هذه السلالات لديها خصائص تكنولوجية جيدة والتي قد تسمح لها ان تكون مؤهلة للاستعمال كخمائر لبنية في صناعات الحليب و مشتقاته.

الكلمات المفتاحية : البكتيرية اللبنة . بكتيريا العصية اللبنة . خصائص تكنولوجية . مخمر لبني .