

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة مولاي الطاهر، سعيدة
Université MOULAY Tahar, Saida



N° d'Ordre

كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master
En Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Etude des activités technologiques des Exo polysaccharides des souches lactiques

Présenté par :

- M^{elle} : Rahal Kheira Khouloud
- M^{elle} : Belahcene Aouicha

Soutenu le :

25 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Président	Mme. Houamria Moufida	MCB Université Saida
Examineur	Mme. Amara Sabrina	MCB Université Saida
Rapporteur	Mme. Chahrour Wassila	MCB Université Saida

Année universitaire 2022/2023

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leur encouragement constant tout au long de mon parcours académique.

Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

À mes cher frère et sœurs, Ceux qui ont partagé avec moi tous mes moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout le long de mon parcours. A ma tante Qui m'a soutenu et encouragée durant mes années d'étude que Dieu vous protège.

À mes amis et camarades d'université, pour les moments de partage, de rires et de soutien mutuel tout au long de cette aventure académique, merci d'avoir rendu cette expérience plus enrichissante et mémorable.

À mes proches, qui m'ont soutenu de près ou de loin, qui ont cru en moi et m'ont encouragé à persévérer, je vous suis profondément reconnaissant pour votre présence et votre soutien constant.

Enfin, à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, je vous adresse mes sincères remerciements. Votre collaboration, vos conseils et votre expertise ont été inestimables et ont contribué à la réussite de ce travail de recherche

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et de nous avoir guidé, aidé Et donné la foi et le courage pour accomplir ce travail.

Nous adressons mes remerciements aux personnes qui nous avons aidées dans la réalisation de ce Travail qu'il a été réalisé au Laboratoire de Microbiologie appliquée, Faculté Des Sciences Biologiques Université Docteur Moulay Tahar, Saida.

En premier lieu nous tendons à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur Madame Chahrour W, pour ses conseils judicieux et ses dirigés tout au long de ce travail, la qualité de son encadrement exceptionnel, sa rigueur, sa précieuse assistance et surtout sa patience à mon égard, ses encouragements et son suivi, ce travail n'aurait pu aboutir.

Un grand merci également aux membres de jury « Docteur Dahani M, Docteur Amara S » d'avoir accepté d'être président de jury, rapporteurs et membres de jury de ce travail.

Le remerciement également à tous les membres du laboratoire du département de la biologie l'Université Docteur Moulay Tahar, Saida.

Toute notre gratitude et mes remerciements les plus sincères à mes chers enseignants du Département de la biologie qui ont participé le long de ces années à ma formation.

Notre remercier en outre tous ceux qui ayant soutenu et pris part, tant moralement Que financièrement de près ou de loin.

Je remercier mes collègues « Aouicha, Khouloud »

MERCI.

Table des matières

PARTIE I. INTRODUCTION

Introduction.....	2
-------------------	---

PARTIE II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. Les bactéries lactiques :.....	5
II.1.1. Caractéristiques générales des bactéries lactiques :.....	5
II.1.2. La Classification et taxonomie :.....	5
II.1.3. Habitat :	6
II.2. Le genre : Lactobacillus.....	6
II.2.1. Habitat :	6
II.2.2. Caractères culturels et exigences nutritionnelles :	7
II.2.3. Exigences en vitamines :	7
II.2.4. Exigences en bases azotées :.....	8
II.2.5. Exigences en cations :	8
II.3. Identification :.....	8
II.4. Activités technologiques des bactéries lactiques :	8
II.4.1. Activité acidifiante :	8
II.4.2. Activité protéolytique :	10
II.4.3. Activité lipolytique :.....	11
II.4.4. Activité aromatisant :.....	12
II.4.5. : Activité émulsification :.....	13
II.4.6. Activité antioxydante :.....	15
II.4.7. Formation de biofilm :.....	17
II.4.8. Activité antimicrobienne :.....	19
II.4.9. Activité antifongiques :.....	19
II.5. Les mécanismes antimicrobiens :.....	20
II.5.1. Pouvoir probiotiques :	22
II.6. Les conditions d'être probiotique :.....	22
II.7. Les Exo polysaccharides:	23
II.8. Définition des polysaccharides :	24
II.9. Structure et Composition des polysaccharides:.....	24

II.9. Classification des polysaccharides :	25
II.10. Définition des Exopolysaccharides:	26
II.11. Structure des Exopolysaccharides :.....	26
II.12. Les EPS microbienne :.....	27
II.13. EPS des bactéries lactiques :	27
II.14. Classification des EPS des bactéries lactiques :.....	28
II.14.1. Homopolysaccharides (HoPS) :	29
II.14.2. Hétéropolysaccharides (HePS):	30
II.15. Application des EPS des bactéries lactiques :	31
II.16. Biosynthèse des Eps :	32

PARTIE III. MATERIEL ET METHODES

III.1. Pré identification.....	35
III.1.1. Tests physiologiques et biochimiques	36
III.1.2. Type fermentaire.....	36
III.1.3. Croissance à différentes températures :	36
III.1.4. Croissance à différentes pH :	36
III.1.5. Identification par galerie Api 50.....	36
III.2. Etude de l'activité :	37
III.2.1. Visualisation de production des EPS :	37
III.2.2. Extraction des EPS :	38
III.2.3. Quantification des EPS par la méthode du phénol-sulfurique.....	38
III.2.4. Formation des biofilms	39
III.2.5. Activité antioxydante :	40
III.2.6. Activité emulsification :.....	40
III.2.7. Activité antimicrobienne :	41

PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Revivification et purification des souches lactiques.....	44
IV.1.1. Examen macroscopique.....	45
IV.1.2. Examen microscopique	46
IV.1.3. Test de Catalase	46
IV.2. Pré-identification des isolats.....	46

IV.3. Production des EPS par les bactéries lactiques :	48
IV.4. Formation des biofilm	49
IV.5. L'extraction et quantification des EPS	50
IV.6. Activité antioxydante :	50
IV.7. Activité d'emulsification	51
IV.8. Activité antimicrobienne :	56

PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

PARTIE VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

PARTIEVII.ANNEXES

Liste des abréviations

EPS : exopolysaccharides

B12 : cobalamine

B3 : niacine

B5 : pantothenate

ADN : Acide désoxyribonucléique

MRS: Man, Rogosa et Sharpe

H₂S : sulfure d'hydrogène

Mg²⁺ : l'ion magnésium

Mn²⁺ : Manganèse cation

Fe²⁺ : l'ion ferreux

AGF : fluorure d'argent

SOD : superoxyde dismutase

ROS : réactives de l'oxygène

S. mutans : *Streptococcus mutans*

S.salivarius : *Streptococcus salivarius*

S.thermophilus: *Streptococcus thermophilus*

L .helveticus: *lactobacillus helveticus*

L.lactis : *Lactococcus lactis*

L. cremoris : *Lactococcus lactis*

Lb. Reuteri : *Lactobacillus reuteri*

Lb. Casei : *Lactobacillus casei*

Lb. Bulgaricus : *Lactobacillus bulgaricus*

HoPS : Homopolysaccharides ; **HePS** : Hétéropolysaccharides

Liste des tableaux

Tableau 01 : préparation des dilutions de glucose 38

Tableau 02: Résultats des caractères physiologiques et biochimiques des Lactobacillus
1' - 3 - 10..... 46

Tableau 03 : Lecture de résultat de formation des biofilm 49

Tableau 04 : Résultat des zones d'inhibition 56

Liste des figures

Figure 1: Les principaux composés antifongiques produits par les bactéries lactiques..	19
Figure 2: 3D structure of cellulose, a beta-glucan polysaccharide	23
Figure 3 : Représentatif des homo et hétéropolysaccharides.	29
Figure 4: Classification of homopolysaccharides produced by Lactobacillus spp. with predominant backbone linkages	30
Figure 05 : Microplaque après 24Heur d'incubation	40
Figure 06 : Revivification et purification des souches lactique	44
Figure 7 : Aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques.....	45
Figure 08 : Observation microscopique des souches revivifiées.....	46
Figure 09: Résultat d'identification après 24 – 48 Heurs	47
Figure 10 : Production des Exopolysaccharide par les souches lactique.....	49
Figure 11: Résultats de formation des biofilm chez les souches Lb1', Lb3, Lb10.	49
Figure 12 : Résultat d'activité antioxydante	51
Figure 13:Résultat d'activité émulsification des EPS LB1', EPS LB3 et EPS LB10	53
Figure 15 : les résultats de l'activité émulsifiant en 1h, 24h, 48h pour les EPSLB 1' et	55
Figure16 : les résultats de l'activité émulsifiante en 1h, 24h, 48h pour les EPSLB 1' et...	56
Figure 17 : Les zones d'inhibition des EPS contre les souches indicatrices.	57

Résumé

Les exopolysaccharides (EPS) produits par les souches lactiques présentent des activités technologiques intéressantes dans diverses applications industrielles.

Ce résumé scientifique met en évidence les principales activités technologiques associées aux EPS des *Lactobacillus*, à savoir l'activité émulsifiante, l'activité antioxydante, l'activité de formation de biofilm et l'activité antimicrobienne.

L'activité émulsifiante des EPS des *Lactobacillus* est liée à leur capacité à stabiliser les émulsions, améliorant ainsi la texture, la stabilité et la conservation des aliments. Ces EPS peuvent être utilisés dans divers produits alimentaires, tels que les sauces, les crèmes et les produits de boulangerie, pour améliorer leurs propriétés organoleptiques et leur qualité globale.

Les EPS des *Lactobacillus* ont également montré des activités antioxydantes, ce qui signifie qu'ils peuvent protéger les aliments contre l'oxydation et la détérioration. Leurs propriétés antioxydantes peuvent contribuer à la préservation des aliments, en particulier des produits sensibles aux réactions d'oxydation, et ainsi prolonger leur durée de conservation.

La capacité des EPS des *Lactobacillus* à former des biofilms est une caractéristique importante dans diverses applications industrielles. Les biofilms EPS offrent une protection supplémentaire contre les facteurs environnementaux défavorables et peuvent améliorer la résistance des bactéries lactiques aux stress technologiques. Cela peut être bénéfique dans la production d'aliments fermentés et dans la mise en place de cultures starter robustes.

Enfin, les EPS des *Lactobacillus* ont également montré une activité antimicrobienne, ce qui signifie qu'ils peuvent inhiber la croissance de certains micro-organismes pathogènes ou indésirables. Cette activité antimicrobienne peut être utilisée pour prévenir la contamination ou la détérioration des aliments, offrant ainsi une approche alternative à l'utilisation de conservateurs chimiques.

Mots clés : souches lactiques, activités technologique, Exopolysaccharides .

Abstract

Exopolysaccharides (EPS) produced by lactic acid bacteria strains exhibit interesting technological activities in various industrial applications. This scientific summary highlights the main technological activities associated with Lactobacillus EPS, namely emulsifying activity, antioxidant activity, biofilm formation activity, and antimicrobial activity.

The emulsifying activity of Lactobacillus EPS is related to their ability to stabilize emulsions, thus improving the texture, stability, and shelf life of food products. These EPS can be used in various food products such as sauces, creams, and bakery goods to enhance their organoleptic properties and overall quality.

Lactobacillus EPS have also shown antioxidant activities, meaning that they can protect food from oxidation and deterioration. Their antioxidant properties can contribute to food preservation, particularly in products susceptible to oxidation reactions, thereby extending their shelf life.

The capacity of Lactobacillus EPS to form biofilms is an important characteristic in various industrial applications. EPS biofilms provide additional protection against adverse environmental factors and can enhance the resistance of lactic acid bacteria to technological stresses. This can be beneficial in the production of fermented foods and the establishment of robust starter cultures.

Lastly, Lactobacillus EPS have also demonstrated antimicrobial activity, meaning that they can inhibit the growth of certain pathogenic or undesirable microorganisms. This antimicrobial activity can be used to prevent food contamination or deterioration, offering an alternative approach to the use of chemical preservatives.

Keywords: Lactic acid bacteria, technological activities, exopolysaccharides.

ملخص

تظهر عديدات السكاريد الخارجية (EPS) التي تنتجها سلالات بكتيريا حمض اللاكتيك أنشطة تكنولوجية مثيرة للاهتمام في تطبيقات صناعية مختلفة. يسلط هذا الملخص العلمي الضوء على الأنشطة التكنولوجية الرئيسية المرتبطة بـ *Lactobacillus EPS* ، وهي نشاط الاستحلاب ونشاط مضادات الأكسدة ونشاط تكوين الأغشية الحيوية والنشاط المضاد للميكروبات.

يرتبط نشاط الاستحلاب لـ *Lactobacillus EPS* بقدرتها على تثبيت المستحلبات ، وبالتالي تحسين نسيج المنتجات الغذائية واستقرارها وعمرها الافتراضي. يمكن استخدام EPS في العديد من المنتجات الغذائية مثل الصلصات والكريمات ومنتجات المخازن لتعزيز خصائصها الحسية وجودتها الشاملة.

أظهرت *Lactobacillus EPS* أيضًا أنشطة مضادة للأكسدة ، مما يعني أنها يمكن أن تحمي الطعام من الأكسدة والتدهور. يمكن أن تساهم خصائصها المضادة للأكسدة في الحفاظ على الطعام ، خاصة في المنتجات المعرضة لتفاعلات الأكسدة ، وبالتالي إطالة عمرها الافتراضي.

تعد قدرة *Lactobacillus EPS* على تكوين الأغشية الحيوية سمة مهمة في التطبيقات الصناعية المختلفة. توفر الأغشية الحيوية EPS حماية إضافية ضد العوامل البيئية الضارة ويمكن أن تعزز مقاومة بكتيريا حمض اللاكتيك للضغوط التكنولوجية. يمكن أن يكون هذا مفيدًا في إنتاج الأطعمة المخمرة وإنشاء ثقافات بداية قوية.

أخيرًا ، أظهرت *Lactobacillus EPS* أيضًا نشاطًا مضادًا للميكروبات ، مما يعني أنها يمكن أن تمنع نمو بعض الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض أو غير المرغوب فيها. يمكن استخدام هذا النشاط المضاد للميكروبات لمنع تلوث الأغذية أو تدهورها ، مما يوفر نهجًا بديلًا لاستخدام المواد الحافظة الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، الأنشطة التكنولوجية ، عديدات السكاريد الخارجية ، جنس العصيات اللبنية.

PARTIE I. INTRODUCTION

Introduction

Les polysaccharides extracellulaires (EPS) sont produits par des micro-organismes et sécrétés à l'extérieur de la cellule. Ces composés ont suscité beaucoup d'intérêt dans la recherche au cours des dernières décennies en raison de leurs diverses propriétés structurales et fonctionnelles (MohdNadzir et al., 2021 ; Sun & Zhang, 2021). Les EPS bactériens sont utilisées dans des produits de grande valeur tels que les aliments, les produits pharmaceutiques, les médicaments et les cosmétiques. Les EPS sont divisés en deux groupes basés sur la structure chimique et le mécanisme de synthèse : les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides (Ates, 2015).

Les EPS bactériens sont biocompatibles et biodégradables par rapport aux polymères synthétiques destructeurs (Wang et al., 2014). Au cours des dernières décennies, la quantité d'EPS produite par fermentation microbienne a considérablement augmenté. Les EPS agissent comme stabilisants alimentaires, émulsifiants, agents viscosifiants et liants d'eau. Cependant, les coûts de production élevés et les processus de récupération sont les principales contraintes pour la production de EPS à grande échelle (Natarajan et al., 2021).

Outre leur fonctionnalité technique, les EPS des bactéries lactiques peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé, tels que la réduction du cholestérol sanguin, des propriétés anticancéreuses, antitumorales et prébiotiques (Behare et al., 2009).

Un grand nombre de LAB sont capables de produire des EPS. Pour la production de produits laitiers tels que le yaourt, le fromage, le lait acidifié et les desserts à base de lait, les LAB producteurs d'EPS sont souvent utilisés (Patel et al., 2012). Les bactéries lactiques typiques appartiennent aux genres *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* et *Pedococcus* (Behare et al., 2009 ; Broadbent et al., 2003).

Partie I. Introduction

Notre objectif est d'étudier les activités des EPS (exopolysaccharides) isolées à partir de souches lactiques.

Notre travail est composé de 3 parties :

Rappel bibliographique concernant les caractéristiques des bactéries lactiques l'importance dans différent domaine, les bactéries lactiques productrices des EPS...

Étude expérimentale : pour évaluer les propriétés fonctionnelles des EPS, on a testé la capacité d'émulsification, leurs activités antimicrobiennes ou antioxydantes, ou d'autres propriétés technologiques des EPS.

Conclusion : dans cette partie on a résumé les résultats obtenues.

PARTIE II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. Les bactéries lactiques :

II.1.1. Caractéristiques générales des bactéries lactiques :

Les bactéries lactique sont des cellules vivantes procaryotes à gram-positif, ayant la formes ; de coque, de bacille ou de coccobacille, asporulées, généralement immobiles, anaérobies, ne possèdent pas de catalase ni oxydase. Elles sont anaérobies facultatives, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer en présence ou en absence d'oxygène , hétérotrophes et chimio-organotrophes, requièrent des molécules organiques complexes comme source énergétique (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides). Elles ne possèdent pas de nitrate réductase. Ces microorganismes fermentent principalement les monosaccharides «glucose» des disaccharides « lactose» et rarement un polysaccharides « amidon» (Rogers et al., 2006 ; Prescott et al ., 2010).

II.1.2. La Classification et taxonomie :

La classification et la taxonomie des bactéries lactiques sont basées sur des critères tels que la morphologie, le métabolisme, la composition biochimique et l'analyse génétique.

Les bactéries lactiques sont classées dans l'ordre Lactobacillales, qui fait partie de la classe Bacilli et du phylum Firmicutes. L'ordre Lactobacillales comprend plusieurs familles, dont les plus courantes sont :

Lactobacillaceae : Cette famille comprend des genres tels que *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella*, et certaines souches de *Leuconostoc*.

Streptococcaceae : Cette famille comprend des genres tels que *Streptococcus* et certaines souches de *Lactococcus*.

Leuconostocaceae : Cette famille comprend le genre *Leuconostoc* et d'autres genres apparentés.

Enterococcaceae : Cette famille comprend le genre *Enterococcus*.

Carnobacteriaceae : Cette famille comprend le genre *Carnobacterium* (Euzéby, J.P., 2021).

II.1.3. Habitat :

La présence des bactéries lactique dans divers habitats dépend de la température et du substrat nutritionnel. Elles sont présentes dans de nombreux milieux naturels, allant du sol, associées aux plantes (chou, maïs, orge, chou frisé), aux produits carnés. (James et al., 2005 ; Talon et al., 2007) ; aux poissons (Kanmani et al., 2011), le kéfir (Farnworth, 2005) et aux produits laitiers : les différents types de fromages (Cocolin et Ercolini, 2008) et les yaourts (Zourari et al., 1992).

II.2. Le genre : Lactobacillus

Ce genre représente le groupe des Lactobacillaceae. Il a été créé en 1901 par le microbiologiste hollandais Beijerinck, pour regrouper des bactéries à gram positif isolées de produits laitiers et à métabolisme fermentaire. Des bâtonnets, non sporulés, parfois, de 0.5 _1.2 μ M et 1.0_10 μ M de dimensions, généralement immobiles. Leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre de coccobacilles aux bacilles fins et allongés, incurvés ou même ovoïdes, groupés en paires avec une formation de chaînes de cellules qui est courte.

II.2.1. Habitat :

Les lactobacilles ont un habitat vaste et ils sont présents dans de nombreux biotopes : eau, sol, lait et produits laitiers, végétaux, produits carnés, poissons, boissons fermenté, fruits et jus de fruits (Fredereghi, 2005).

Classification et taxonomie :

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Lactobacillales

Famille : Lactobacillaceae

Genre : Lactobacillus

Le genre Lactobacillus comprend pour l'instant 192 espèces, telles que *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, etc. (Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., et al., 2020).

II.2.2. Caractères culturels et exigences nutritionnelles :

La plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de température comprise entre 15°C et 42°C. Certaines souches de lactobacilles dites « thermophiles » restent viables à 55°C (Adams et Moss, 2000 ; Tailliez, 2004). Les lactobacilles se développent au mieux dans des conditions acides, quand le pH avoisine les 4,5 à 6,4, mais leur croissance s'arrête lorsque le pH avoisine 3,5 (De Vos et al., 2009).

Le milieu le plus adapté à leur culture est celui De Man, Rogosa et Sharpe (MRS) ; Sur MRS gélosé, les colonies se développent en 24 à 48 heures. Elles sont généralement petites, incolores, blanchâtres ou jaunâtres, lisses ou rugueuses, arrondies ou lenticulaires (De Vos et al., 2009).

En plus de la source de carbone et d'azote, les lactobacilles sont caractérisés par des exigences nutritionnelles nombreuses qui peuvent être classées selon (De Man et al., 1960) ; De Vos et al., 2009) comme suit :

II.2.3. Exigences en vitamines :

Toutes les espèces ont un besoin absolu en vitamines telles que la pantothenate (B5), en niacine (B3) et en cobalamine (B12). Les déficiences en vitamine B12 peuvent induire une diminution de la synthèse de l'ADN et entraîner des changements morphologiques et les cellules deviennent filamenteuses. Une telle élongation cellulaire a été observée avec *Lb .helveticusspjugurti* lors de déficiences en cobalamine (B12) ou en acide folique.

II.2.4. Exigences en bases azotées :

Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles, exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile. Ces exigences sont variables selon les espèces.

II.2.5. Exigences en cations :

Les ions Mg^{2+} et Mn^{2+} ou Fe^{2+} sont nécessaires pour la croissance des lactobacilles.

Il a été démontré que le manganèse et le magnésium interviennent comme activateurs d'un grand nombre de réactions enzymatiques et comme stabilisateurs de la structure des acides nucléiques, de l'intégrité des ribosomes et de la membrane cellulaire des lactobacilles.

II.3. Identification :

L'identification d'espèces de lactobacilles peut être difficile à réaliser par les méthodes biochimiques en raison du très grand nombre d'espèces existantes. Elle repose essentiellement sur des tests de fermentation des sucres. La galerie API 50 CH avec l'utilisation du milieu pour lactobacilles, est la méthode biochimique la plus utilisée et probablement la plus fiable (Roissart et Luquet, 1994 ; Ozgan et Vural, 2011). L'utilisation des outils de taxonomie moléculaire comme l'hybridation quantitative ADN/ADN et le séquençage des gènes d'ADNr 16S ont permis de lever des ambiguïtés et de nommer précisément les espèces de lactobacilles d'intérêt en santé et en alimentation humaine parmi plus d'une centaine d'espèces de lactobacilles actuellement décrites (Dellaglio et Felis, 2005).

II.4. Activités technologiques des bactéries lactiques :

II.4.1. Activité acidifiante :

Les bactéries lactiques sont bien connues pour leur activité acidifiante, c'est-à-dire leur capacité à produire de l'acide lactique à partir de la fermentation des sucres. Cette activité acidifiante est un trait caractéristique

Partie II. Synthèse bibliographique

des bactéries lactiques et joue un rôle crucial dans plusieurs domaines, notamment dans l'industrie alimentaire et dans la production de produits fermentés (Tamang, J. P., Shin, D. H., Jung, S. J., & Chae, S. W. 2016).

Dans l'industrie alimentaire, l'activité acidifiante des bactéries lactiques est largement utilisée dans la production de nombreux produits fermentés tels que le yaourt, le fromage, les cornichons, la choucroute, la sauerkraut et les salaisons. L'acidification contribue à la conservation des aliments en inhibant la croissance des micro-organismes pathogènes et en améliorant la stabilité microbiologique des produits (Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (Eds.). 2007).

En plus de son rôle conservateur, l'activité acidifiante des bactéries lactiques confère également des caractéristiques sensorielles spécifiques aux produits fermentés. L'acidité apporte une saveur caractéristique, une sensation de fraîcheur et contribue à l'équilibre gustatif des aliments fermentés (Caplice E., & Fitzgerald G. F., 1999).

Par ailleurs, l'activité acidifiante des bactéries lactiques est également importante dans la production de probiotiques. Les bactéries lactiques probiotiques, telles que *Lactobacillus*, peuvent coloniser le tractus gastro-intestinal et contribuer à maintenir l'équilibre de la flore intestinale. Leur activité acidifiante permet de créer un environnement acide dans l'intestin, favorisant ainsi la croissance des bactéries bénéfiques et inhibant la prolifération des micro-organismes pathogènes (Hill C., Guarner F., Reid G., et al., 2014).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus acidophilus : cette espèce est connue pour sa capacité à produire de l'acide lactique et à abaisser le pH dans les produits laitiers fermentés tels que le yaourt.

Lactobacillus delbrueckii : cette espèce est couramment utilisée dans la fabrication de fromages et de yaourts en raison de sa forte activité acidifiante.

Lactobacillus plantarum : cette espèce est souvent utilisée dans la fermentation des légumes lacto-fermentés tels que la choucroute. Elle produit de l'acide lactique qui contribue à la conservation des aliments.

Lactobacillus fermentum : cette espèce présente une activité acidifiante et est utilisée dans la production de certains produits laitiers fermentés et de boissons probiotiques.

II.4.2. Activité protéolytique :

Les bactéries lactiques peuvent également présenter une activité protéolytique, c'est-à-dire leur capacité à dégrader les protéines en peptides plus petits ou en acides aminés. Cette activité est réalisée par des enzymes protéolytiques, telles que les protéases, produites par les bactéries lactiques (Gänzle, M.G.,2015).

L'activité protéolytique des bactéries lactiques peut avoir plusieurs effets et implications :

Amélioration de la digestibilité des protéines : Les bactéries lactiques, lorsqu'elles sont présentes dans le tube digestif, peuvent contribuer à la digestion des protéines alimentaires. Leurs enzymes protéolytiques dégradent les protéines en peptides plus petits, ce qui facilite leur absorption et leur utilisation par l'organisme.

Développement de l'arôme et de la saveur : L'activité protéolytique des bactéries lactiques peut également contribuer au développement de l'arôme et de la saveur des produits fermentés. Lors de la dégradation des protéines, des composés aromatiques sont produits, ce qui ajoute une complexité et une richesse gustative aux produits.

Formation de structures et de textures : Dans certains produits fermentés, l'activité protéolytique des bactéries lactiques peut jouer un rôle dans la formation de structures et de textures particulières. Par exemple, dans certains fromages, les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques

sont essentielles à la formation de la texture caractéristique et à la libération des arômes pendant le processus de maturation (Tamime, A.Y., & Robinson, R.K.,2017).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus helveticus : cette espèce est connue pour sa forte activité protéolytique, ce qui lui permet de dégrader les protéines du lait et de contribuer à la formation de l'arôme et de la texture caractéristiques de certains fromages.

Lactobacillus brevis : cette espèce présente également une activité protéolytique et est utilisée dans la fermentation de certains aliments, tels que les légumes lacto-fermentés, où elle participe à la dégradation des protéines végétales.

Lactobacillus rhamnosus : bien que cette espèce soit généralement connue pour ses effets probiotiques, certaines souches de *Lactobacillus rhamnosus* présentent également une activité protéolytique.

II.4.3. Activité lipolytique :

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, Il est connu que la présence de bactéries lactiques autochtones dans les aliments fermentés interfère avec la détermination des propriétés sensorielles du produit. Dans ce contexte, plusieurs activités contribue à promouvoir ces propriétés (Goût, odeur et arôme) est l'une d'entre elles est l'activité lipolytique (une des plus recherchées dans les aliments). Sa perception dépend de la texture du produit (Smit et al., 2005). L'hydrolyse des triglycérides est la principale transformation lors du catabolisme des graisses. Les acides gras libres (AGF) libérés contribuent à l'arôme et à la saveur de certains aliments, en particulier le fromage.

Exemple d'espèces :

Lactobacillus plantarum : cette espèce est largement répandue et présente une activité lipolytique. Elle peut contribuer à la dégradation des lipides dans les aliments fermentés, tels que les produits laitiers et les légumes lacto-fermentés.

Lactobacillus fermentum : certaines souches de cette espèce ont montré une activité lipolytique. Elles peuvent jouer un rôle dans la dégradation des lipides pendant la fermentation alimentaire.

Lactobacillus acidophilus : bien que cette espèce soit plus souvent associée à des effets probiotiques, certaines souches de *Lactobacillus acidophilus* ont également montré une activité lipolytique.

II.4.4. Activité aromatisant :

Tout à fait, les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire de nombreux composés aromatiques pendant la fermentation des aliments. Ces composés contribuent de manière significative à la saveur, à l'odeur et à l'arôme des produits fermentés tels que les laits fermentés, les fromages, les crèmes et le beurre (Licitra, G., & Ogier, J. C., 2018).

Les bactéries lactiques utilisent divers substrats, tels que le lactose, les acides aminés et les matières grasses, pour produire ces composés aromatiques. Par exemple, la dégradation du lactose par les bactéries lactiques peut générer des composés tels que l'acide lactique, l'acétaldéhyde et le diacétyl, qui contribuent à la saveur et à l'arôme caractéristiques des produits laitiers fermentés.

Les acides aminés sont également des précurseurs importants dans la production d'arômes par les bactéries lactiques. Leur dégradation peut conduire à la formation de composés volatils tels que les acides gras, les esters, les cétones et les aldéhydes, qui confèrent des arômes spécifiques aux produits fermentés.

De plus, les bactéries lactiques sont capables de métaboliser les matières grasses présentes dans les aliments, ce qui peut conduire à la production d'acides gras volatils et d'autres composés aromatiques.

(ogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernández, M., ... & Leroy, F.,2017).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus delbrueckii : cette espèce est largement utilisée dans la production de yaourts et de fromages. Certaines souches de *Lactobacillus delbrueckii* sont capables de produire des composés aromatiques tels que l'acide lactique, l'acétaldéhyde et l'acétate d'éthyle, qui contribuent à l'arôme caractéristique de ces produits.

Lactobacillus brevis : cette espèce est connue pour sa capacité à produire des composés aromatiques tels que des esters, des aldéhydes et des cétones. Certains de ces composés peuvent avoir des notes fruitées, florales ou épicées, ajoutant ainsi de la complexité aromatique aux produits fermentés.

Lactobacillus helveticus : certaines souches de cette espèce sont utilisées dans la production de fromages, notamment les fromages suisses. Elles sont capables de produire des composés aromatiques tels que les esters, qui contribuent à l'arôme et au goût caractéristiques de ces fromages.

II.4.5. : Activité émulsification :

Les bactéries lactiques peuvent présenter une activité d'émulsification, ce qui signifie qu'elles peuvent faciliter la formation et la stabilité des émulsions. Les émulsions sont des systèmes où deux liquides immiscibles, tels que l'eau et l'huile, sont dispersés de manière homogène grâce à l'utilisation d'un agent émulsifiant (Dertli, E., Mercan, E., &Çon, A. H.,2020).

L'activité d'émulsification des bactéries lactiques est attribuée à la production de substances exopolymériques, telles que les exopolysaccharides (EPS) et les lipides extracellulaires. Ces substances peuvent agir comme des

agents émulsifiants naturels en favorisant la formation d'une interface entre les phases aqueuse et lipidique de l'émulsion (Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., & Arendt, E. K., 2016).

Les mécanismes spécifiques par lesquels les bactéries lactiques exercent leur activité d'émulsification ne sont pas entièrement compris, mais certaines hypothèses ont été avancées :

Formation de films émulsifiants : Les EPS produits par les bactéries lactiques peuvent former des films à la surface des gouttelettes lipidiques, ce qui améliore la stabilité de l'émulsion en empêchant la coalescence des gouttelettes.

Modification de la tension interfaciale : Les substances exopolymériques produites par les bactéries lactiques peuvent modifier la tension superficielle à l'interface entre l'eau et l'huile, facilitant ainsi la formation et la stabilité des émulsions.

Stabilisation électrostatique : Certains EPS produits par les bactéries lactiques portent une charge électrique, ce qui peut favoriser la répulsion entre les gouttelettes lipidiques chargées de manière similaire, empêchant leur coalescence (Salquebre, G., & Spinnler, H. E., 2018).

L'activité d'émulsification des bactéries lactiques peut avoir des applications potentielles dans l'industrie alimentaire et cosmétique. Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques peuvent être utilisées pour améliorer la texture, la stabilité et la qualité des produits émulsionnés, tels que les sauces, les vinaigrettes, les crèmes et les desserts. Dans l'industrie cosmétique, les bactéries lactiques peuvent être utilisées pour développer des formulations émulsionnées pour les produits de soins de la peau et les cosmétiques (Venegas-Cubillos, G., & Klotz, B., 2020).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus plantarum : cette espèce est couramment utilisée dans l'industrie alimentaire pour ses propriétés émulsifiantes. Elle produit des

composés surfactants qui aident à stabiliser les émulsions et à empêcher la séparation des phases.

Lactobacillus fermentum : certaines souches de cette espèce ont démontré une activité émulsifiante, ce qui les rend utiles dans la production d'aliments contenant des émulsions, tels que les sauces et les vinaigrettes.

Lactobacillus rhamnosus : cette espèce présente également une activité émulsifiante. Elle produit des molécules tensioactives qui facilitent la formation et la stabilité des émulsions.

II.4.6. Activité antioxydante :

Les bactéries lactiques ont également montré des activités antioxydantes, ce qui signifie qu'elles peuvent aider à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs dans l'organisme (Wang, Y., Wu, Y., Wang, S., & Xu, Y., 2018).

Les activités antioxydantes des bactéries lactiques sont attribuées à différents mécanismes :

Production d'enzymes antioxydantes : Certaines bactéries lactiques produisent des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase, qui sont des enzymes antioxydantes naturelles. Ces enzymes aident à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

Production de métabolites antioxydants : Les bactéries lactiques peuvent produire des métabolites ayant des propriétés antioxydantes, tels que les peptides antioxydants, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les caroténoïdes. Ces composés peuvent neutraliser les radicaux libres et protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

Capacité à chélater les ions métalliques : Les bactéries lactiques peuvent se lier aux ions métalliques, tels que le fer et le cuivre, qui peuvent

catalyser la formation de radicaux libres. En chélatant ces ions métalliques, les bactéries lactiques peuvent réduire le stress oxydatif.

Régulation de l'équilibre redox : Les bactéries lactiques peuvent réguler l'équilibre redox dans l'environnement dans lequel elles se trouvent. Elles peuvent maintenir un équilibre entre les espèces oxydantes et les antioxydants, ce qui contribue à réduire le stress oxydatif.

L'activité antioxydante des bactéries lactiques peut avoir des implications bénéfiques pour la santé humaine. Elle peut contribuer à la prévention de diverses maladies liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et certains types de cancer. De plus, les bactéries lactiques ayant des activités antioxydantes peuvent être utilisées dans l'industrie alimentaire pour améliorer la qualité et la durée de conservation des aliments, en minimisant les dommages oxydatifs (Xu, R., Wang, R., Li, Y., Wu, H., Li, H., & Li, Z., 2021).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus plantarum : cette espèce est largement étudiée pour ses propriétés antioxydantes. Elle produit des enzymes et des métabolites qui peuvent neutraliser les radicaux libres et réduire le stress oxydatif.

Lactobacillus brevis : certaines souches de cette espèce ont également montré une activité antioxydante significative. Elles peuvent produire des composés tels que les peptides antioxydants et les enzymes antioxydantes qui aident à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

Lactobacillus acidophilus : cette espèce est connue pour sa capacité à produire des antioxydants naturels, tels que l'acide lactique et le glutathion. Ces composés peuvent neutraliser les radicaux libres et prévenir les dommages oxydatifs.

II.4.7. Formation de biofilm :

Les bactéries lactiques ont la capacité de former des biofilms, qui sont des communautés microbiennes structurées et adhérentes à une surface. Les biofilms sont constitués de microorganismes enchevêtrés dans une matrice extracellulaire composée principalement de polysaccharides, de protéines et de lipides (Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S., von Wright, A., & von Wright, A., 2019).

La formation des biofilms par les bactéries lactiques peut se produire dans différents environnements, y compris les systèmes alimentaires et les voies de production industrielle. Les biofilms peuvent se former sur des surfaces telles que les équipements de transformation alimentaire, les tuyaux, les réservoirs et les surfaces des produits alimentaires (Muhammed, M. K., & Al-Saadi, A. A., 2020).

La formation des biofilms par les bactéries lactiques peut avoir des effets à la fois bénéfiques et indésirables. Voici quelques points clés concernant la formation des biofilms par les bactéries lactiques :

Protection et résistance : Les biofilms fournissent une protection accrue aux bactéries lactiques contre les agents antimicrobiens tels que les désinfectants et les antibiotiques, ainsi que contre les conditions environnementales défavorables. Les bactéries incluses dans le biofilm sont mieux protégées contre les stress environnementaux, ce qui peut contribuer à leur survie et à leur persistance dans les environnements hostiles.

Adhésion aux surfaces : Les bactéries lactiques sont capables de s'adhérer aux surfaces à l'aide de structures cellulaires telles que les pili, les adhésines et les facteurs de liaison spécifiques. Cette adhésion initiale est un premier pas vers la formation d'un biofilm mature.

Matrice extracellulaire : Les bactéries lactiques produisent des polysaccharides extracellulaires, des protéines et d'autres molécules qui composent la matrice du biofilm. Cette matrice joue un rôle essentiel dans la

cohésion et la structure du biofilm en maintenant les cellules ensemble et en facilitant les interactions cellulaires.

Implications industrielles : La formation de biofilms par les bactéries lactiques dans les environnements de production alimentaire peut avoir des implications indésirables. Les biofilms peuvent entraîner une contamination croisée, une altération de la qualité des produits, une obstruction des conduites et une réduction de l'efficacité des procédés de nettoyage et de désinfection (Mercier, A., Durrieu, C., Briandet, R., & Domakova, E., 2020).

La prévention et la gestion des biofilms sont donc des enjeux importants dans les industries alimentaires. Des mesures de contrôle de l'hygiène, telles que des protocoles de nettoyage et de désinfection rigoureux, la surveillance microbiologique et la conception hygiénique des installations, sont essentielles pour minimiser la formation et la persistance des biofilms (Oliveira, M., Abadias, M., & Usall, J., 2015).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus rhamnosus : cette espèce est souvent associée à la formation de biofilms bénéfiques. Les biofilms formés par *L. rhamnosus* peuvent jouer un rôle protecteur en formant une barrière physique contre les microorganismes indésirables et en aidant à maintenir une stabilité microbiologique.

Lactobacillus casei : certaines souches de *L. casei* ont également été étudiées pour leur capacité à former des biofilms. Ces biofilms peuvent contribuer à la préservation des aliments et à la régulation de la flore microbienne.

Lactobacillus fermentum : cette espèce a montré une capacité à former des biofilms, ce qui peut être avantageux dans certaines applications, notamment dans l'industrie alimentaire et la production de probiotiques.

II.4.8. Activité antimicrobienne :

Les bactéries lactiques sont connues pour leurs activités antimicrobiennes, qui consistent à inhiber ou à tuer d'autres micro-organismes indésirables telque les levures et moisissures (SánchezMainar, M., &Lerayer, A. L.,2018).

II.4.9. Activité antifongiques :

Les composés antifongiques pourraient permettre l'inhibition de la croissance de moisissures, d'améliorer la durée de vie de nombreux produits fermentés et, par conséquent de réduire les risques pour la santé des consommateurs suite à l'exposition aux mycotoxines (Gourama&Bullerman, 1995).

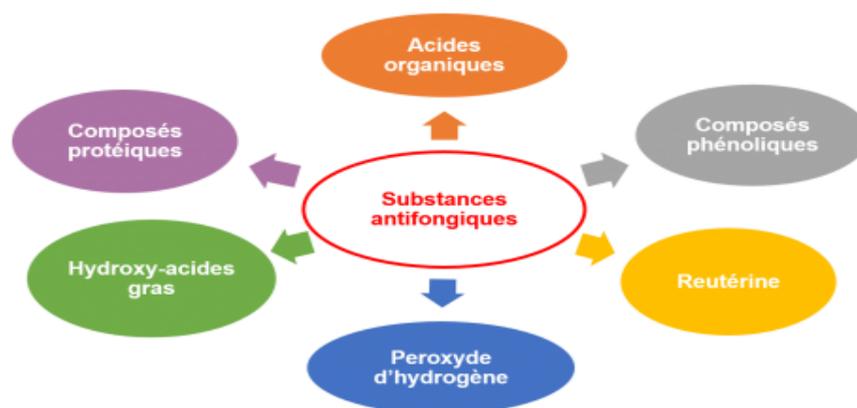


Figure 1: Les principaux composés antifongiques produits par les bactéries lactiques

Exemple d'espèces :

Lactobacillus plantarum : cette espèce est bien connue pour sa capacité à inhiber la croissance de nombreux champignons pathogènes, tels que *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. Les substances produites par *L. plantarum*, comme les acides organiques et les composés antimicrobiens, peuvent contribuer à son activité antifongique.

Lactobacillus brevis : certaines souches de *L. brevis* ont démontré une activité antifongique contre différents champignons, notamment les espèces du genre *Penicillium*. Les mécanismes d'action impliquent souvent la production d'acides organiques et d'autres métabolites inhibiteurs. *Lactobacillus acidophilus* : cette espèce de lactobacilles a également montré une activité antifongique contre certains champignons pathogènes, tels que *Candida* spp. Les mécanismes d'action peuvent inclure la production d'acides organiques, d'enzymes et d'autres substances inhibitrices.

II.5. Les mécanismes antimicrobiens :

Ces activités antimicrobiennes sont attribuées à plusieurs mécanismes d'action des bactéries lactiques (Messens et De, 2002) ;

Production d'acides organiques : Les bactéries lactiques produisent généralement de l'acide lactique à partir du métabolisme des sucres. L'acidification de l'environnement inhibe la croissance de nombreux micro-organismes pathogènes et indésirables. Certaines bactéries lactiques produisent également d'autres acides organiques tels que l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique, qui contribuent également à l'activité antimicrobienne.

Production de peroxyde d'hydrogène : Certains types de bactéries lactiques sont capables de produire du peroxyde d'hydrogène, une substance ayant des propriétés antimicrobiennes. Le peroxyde d'hydrogène endommage les membranes cellulaires des micro-organismes cibles, entraînant leur mort ou leur inhibition.

Production de peptides antimicrobiens : Les bactéries lactiques sont capables de produire des peptides antimicrobiens, également appelés bactériocines. Ces peptides sont des molécules protéiques qui peuvent inhiber la croissance d'autres bactéries, y compris des souches pathogènes. Les bactériocines produites par les bactéries lactiques ont une activité

Partie II. Synthèse bibliographique

sélective, ce qui signifie qu'elles peuvent cibler spécifiquement certains micro-organismes sans affecter les bactéries bénéfiques.

Compétition pour les nutriments : Les bactéries lactiques peuvent concurrencer d'autres micro-organismes en utilisant les nutriments présents dans l'environnement. En consommant les nutriments nécessaires à la croissance des micro-organismes indésirables, les bactéries lactiques réduisent leur capacité à se développer et à causer des problèmes.

Les activités antimicrobiennes des bactéries lactiques ont des applications dans plusieurs domaines, notamment :

L'industrie alimentaire : Les bactéries lactiques sont utilisées dans la production de nombreux aliments fermentés tels que le yaourt, le fromage, la choucroute et le pain, où leur activité antimicrobienne contribue à la conservation des aliments et à la prévention de la contamination par des pathogènes (Settanni, L., & Corsetti, A., 2008).

La préservation des aliments : Les métabolites produits par les bactéries lactiques, tels que l'acide lactique et les bactériocines, peuvent être utilisés comme agents de conservation naturels pour prolonger la durée de conservation des aliments, en remplacement des agents de conservation chimiques (Papagianni, M., 2003).

Exemple d'espèces :

Lactobacillus rhamnosus : cette espèce est largement étudiée pour ses propriétés antimicrobiennes. Elle peut inhiber la croissance de bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. et *Staphylococcus aureus*.

Lactobacillus acidophilus : cette espèce a montré une activité inhibitrice contre des bactéries pathogènes telles que *Clostridium difficile*, *Helicobacter pylori* et certains pathogènes intestinaux.

Partie II. Synthèse bibliographique

Lactobacillus plantarum : certaines souches de *L. plantarum* produisent des composés antimicrobiens tels que les peptides antimicrobiens et les acides organiques, qui peuvent inhiber la croissance de divers pathogènes.

Lactobacillus fermentum : cette espèce a été étudiée pour son activité antimicrobienne contre des bactéries pathogènes telles que *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* et *Pseudomonas aeruginosa*.

II.5.1. Pouvoir probiotiques :

Certains types de bactéries lactiques sont utilisés comme probiotiques, c'est-à-dire des micro-organismes bénéfiques pour la santé. Leurs activités antimicrobiennes aident à maintenir l'équilibre de la flore intestinale en inhibant la croissance de bactéries pathogènes.

Exemple d'espèces :

Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus *Lactobacillus acidophilus*

Streptococcus thermophilus *Lactobacillus rhamnosus subsp.*

Lactobacillus helveticus *Lactobacillus plantarum*

Bifidobacterium infantis *Bifidobacterium bifidum*

II.6. Les conditions d'être probiotique :

Les bactéries lactiques probiotiques doivent remplir plusieurs conditions pour être considérées comme telles :

Origine et sécurité : Les bactéries lactiques probiotiques doivent être d'origine naturelle et ne pas présenter de risques pour la santé humaine lorsqu'elles sont consommées en quantités appropriées. Elles doivent également être exemptes de tout élément pathogène potentiel.

Survie et viabilité : Les bactéries lactiques probiotiques doivent être capables de survivre aux conditions du tractus gastro-intestinal, y compris

Partie II. Synthèse bibliographique

l'acidité de l'estomac, afin d'atteindre l'intestin où elles peuvent exercer leurs effets bénéfiques.

Adhésion et colonisation : Les bactéries lactiques probiotiques doivent avoir la capacité de s'adhérer à la muqueuse intestinale et de coloniser l'intestin, ce qui leur permet de former une population durable et de soutenir l'équilibre de la flore intestinale.

Activité métabolique : Les bactéries lactiques probiotiques doivent être métaboliquement actives dans l'intestin, ce qui signifie qu'elles doivent être capables de métaboliser certains substrats présents dans le tractus gastro-intestinal, tels que les glucides, les fibres ou les polysaccharides.

Effets bénéfiques pour l'hôte : Les bactéries lactiques probiotiques doivent démontrer des effets positifs sur la santé de l'hôte. Cela peut inclure le soutien de la digestion, la stimulation du système immunitaire, la réduction des symptômes digestifs, la prévention des infections, ou d'autres effets bénéfiques spécifiques.

II. Les Exo polysaccharides:

Les polysaccharides :

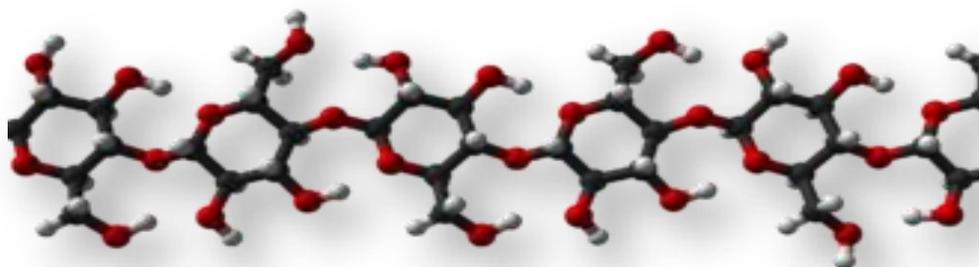


Figure 2: 3D structure of cellulose, a beta-glucan polysaccharide

II.7. Définition :

Les polysaccharides ou polyosides sont des hydrates de carbone, plus ou moins polymérisés, très répandus dans la nature puisqu'ils représentent la majeure partie des glucides chez les êtres vivants. Les polysaccharides sont constitués de nombreuses sous-unités qui sont, soit des sucres simples, soit leurs dérivés. Ils peuvent former des chaînes linéaires, ramifiées ou non, et présentent une hydrophilie importante, ce qui permet de les utiliser pour modifier les propriétés des systèmes aqueux, comme par exemple une viscosité élevée à faibles concentrations, des propriétés gélifiantes, une bonne solubilité dans l'eau et des propriétés adhésives permettant aux bactéries qui les synthétisent de se lier fortement à des différents supports (Sanin et al., 2003).

II.8. Structure et Composition des polysaccharides:

Un polysaccharide est un polymère de résidus monosaccharidiques reliés entre eux par des Liens glycosidiques. Ces liens se forment par l'élimination d'une molécule d'eau entre le groupe hémiacétal hydroxyle de l'extrémité de l'un et le groupe hydroxyle primaire ou secondaire du résidu suivant. Le groupement hydroxyle peut être dérivé par estérification et peut être présent sous forme d'acétate, de sulfate ou de phosphate. Les groupements hydroxyles peuvent aussi être substitués par des pyruvates ketals. Des résidus d'acides uraniques (ex. : acide D-galacturonique) peuvent être présents dans certains polysaccharides (certaines unités sont méthyl-estérifiées alors que d'autres sont associées à des cations mono ou divalents).

Les polysaccharides peuvent être linéaires, avec embranchements ou, dans certains cas, cycliques. Le degré de ramification du polymère a une incidence sur les propriétés physiques telles que la solubilité dans l'eau, la viscosité et les comportements gélifiants des solutions de polysaccharides.

Le nombre de résidus contenus dans un polysaccharide peut être de quelques-uns à plusieurs milliers et la composition d'un polysaccharide peut

être homogène (un seul type de monosaccharide) ou hétérogène (plusieurs types de monosaccharides) (Hames et al., 2006 ; Gorska et al., 2013).

II.9. Classification des polysaccharides :

Plusieurs types de polysaccharides provenant de sources diverses peuvent être employés selon le produit visé et l'effet recherché. Ils peuvent être d'origine végétale (cellulose, pectine, amidon), d'origine algale (agar-agar, alginate, carraghénine), ou d'origine fongique ou d'origine bactérienne (gomme gellan, gomme xanthane, alginate) (Duboc et Mollet, 2001). Les microorganismes peuvent synthétiser les polysaccharides qui peuvent être classés en trois groupes selon leur localisation dans la cellule :

Le premier groupe rassemble les polysaccharides intracellulaires (du cytosol) appelé polysaccharides de stockage tels que le glycogène qui est situé dans le cytoplasme.

Le second groupe concernant les polysaccharides structuraux de la paroi cellulaire comme le peptidoglycane et les acides lipotéichoïques des bactéries à Gram positif, et les lipopolysaccharides ancrés dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Ruas-Madidu et de los Reyes-Gavilán, 2005).

Le troisième groupe réunit les polysaccharides extracellulaires, certaines bactéries peuvent sécréter une couche de polysaccharide sur leur surface, qui, avec quelques glycoprotéines, sont regroupées dans le cadre général sous le terme «glycocalyx», ce dernier groupe se présente sous deux formes de base, soit sous forme de capsule intimement associée à la surface de la cellule, soit des exopolysaccharides (EPS) au sens strict du terme qui sont excrétés dans le milieu extérieur en entourant parfois les cellules dans une gangue muqueuse (Cerning, 1990).

Les Exopolysaccharides :

II.10. Définition :

Les Exopolysaccharides (EPS) : sont des macromolécules organiques à chaîne longue linéaires ou ramifiés composés d'unités de sucre dans différents rapports qui comprennent principalement le glucose, le galactose, le rhamnose, etc. synthétisées par divers microbes à l'aide de différentes sources de carbone au cours du processus de fermentation (Paulo et al., 2012). Les EPS sont des composés de métabolites secondaires produits lorsque certains microorganismes ne sont pas dans des conditions favorables à leur prolifération (Shailesh et al., 2016). Au lieu de se fixer en permanence à la surface, ces polysaccharides sont sécrétés dans leur environnement. Cette caractéristique différencie les Exopolysaccharides des polysaccharides capsulaires (Chen et Narbad, 2018; Shailesh et al., 2016).

II.11. Structure des Exopolysaccharides :

Les EPS consistent principalement en un nombre limité de types de monosaccharides différents ou de leurs dérivés et présentent une grande diversité grâce à diverses combinaisons d'unités de monosaccharides disposées en configurations linéaires ou ramifiées reliés entre eux par des liens glycosidiques (Nicolaus et al., 2010). Le nombre de structures chimiques différentes des EPS bactériens est très élevé et il s'agit en général d'hétéropolysaccharides possédant trois mais aussi quatre monomères différents organisés en groupes d'un ensemble de 10 ou moins pour donner les unités répétitives. Les monosaccharides créant les Exopolysaccharides peuvent être des pentoses, des hexoses, des acides aminés ou des acides uroniques (Suresh Kumar et al., 2007).

Les liaisons de squelette les plus courantes des séquences non saccharidiques sont les liaisons β -1,4 ou β -1,3, qui présentent une rigidité structurelle caractéristique, comme dans le squelette cellulosique du

xanthane de *Xanthomonas campestris*, tandis que d'autres liaisons telles que les liaisons α -1,2 ou α -1,6 sont considérées comme des structures flexibles, telles que les liaisons trouvées dans de nombreux dextrans (Nicolaus et al., 2010).

La possibilité de liaisons différentes dans les polysaccharides ainsi que la variation des arrangements de monomères ont entraîné une large gamme de formes et de structures (Suresh Kumar et al., 2007).

II.12. Les EPS microbienne :

Les polysaccharides microbiens sont produits par une grande variété de microorganismes eucaryotes et procaryotes, mais les bactéries produisent la plus grande diversité de molécules et produisent plus souvent des quantités jusqu'à 10 g/l. Les microorganismes producteurs n'utilisent pas les EPS bactériens comme sources d'énergie, les EPS microbiens se situent entre les composés les plus multifonctionnels et industriellement intéressants (Sanlibaba et Çakmak, 2016). Les polysaccharides microbiens sont susceptibles à la biodégradation dans la nature et sont moins nocifs pour l'environnement que les polymères synthétiques, cela contribue à leur respect de l'environnement dans les applications industrielles, ainsi que dans l'élimination des eaux usées ou dans l'environnement (Shailesh et al., 2016).

II.13. EPS des bactéries lactiques :

Mentionnée par plusieurs auteurs et même approuvée ; la capacité des bactéries lactiques à gérer ces polymères lors de leur croissance (Grobben et al., 1997 ; De Vuyst et Degeest, 1999 ; Degeest et al., 2001 ; Ruas-Madiedo et de los Reyes-Gavilan, 2005 ; Badel et al., 2011 ; Mende et al., 2012).

Les genres les plus couramment rencontrés producteurs d'EPS sont : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et les plus fréquents sont

Lactobacillus ; approximativement 30 espèces l'en sont (Ruas-Madidu et de los Reyes-Gavilan, 2005; Badel et al., 2011) parfois même des Bifidobacterium.

Exemple d'espèces :

Lactobacillus planétarium

Streptococcus thermophilus

Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus

Lactococcus Jacti sssp cremoris

II.14. Classification des EPS des bactéries lactiques :

Fondamentalement, en fonction de la composition des unités répétitives et voie de biosynthèse, les EPS peuvent être classés en deux classes (Mishra et Jha, 2013).

Ces classes sont des homopolysaccharides ou des hétéropolysaccharides (figure). La masse moléculaire des hétéropolysaccharides varie de 104 à 106 Da, généralement inférieure à la masse moléculaire moyenne de homopolysaccharides 107 Da (Sanlibaba et Çakmak, 2016).

Les homopolysacchrides et hétéropolysaccharides respectivement diffèrent également par le nombre des enzymes et l'organisation des gènes impliqués dans leur synthèse. Enfin, en fonction des substituants présents dans les unités répétitives d'hétéropolysaccharides, il y a des polymères chargés ou neutres, ce dernier est appelée «zwitterionique». Les EPS se caractérisent d'avoir à la fois des radicaux chargés positivement (par exemple amine libre) ou chargés négativement (par exemple, des phosphates ou des carboxylates) dans leurs unités répétitives (Hidalgo-Cantabrana et al., 2012).

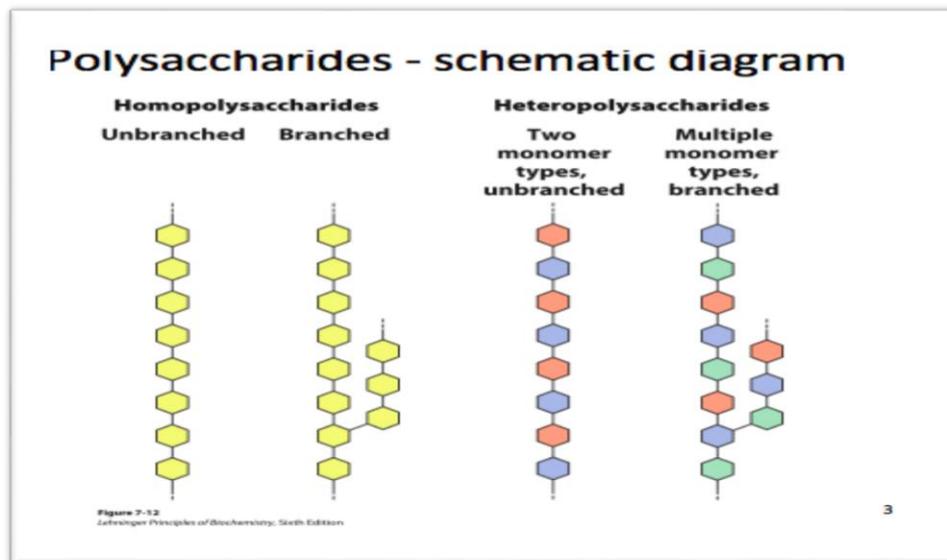


Figure 3 : Représentatif des homo et hétéropolysaccharides.

II.14.1. Homopolysaccharides (HoPS) :

Constitués d'un seul monosaccharide; les deux positions (alpha ou beta) du groupement hydroxyle sur l'hexose sont possibles (De Vuyst et al., 2001) ; d'un poids moléculaire élevé entre : 4.0×10^4 et 6.0×10^6 Da ; souvent produits en grandes quantités par rapport aux hétéropolysaccharides. Ils sont subdivisés en 4 sous- groupes (Sanchez et al., 2006).

α -D glucanes : exemple :

Dextrane : polymères de glucose liés 1-6, produits par: *Leuconostocmesenteroides*.

Mutane-1-3 : le second HoPS le plus décrit, produit par *S. mutans*; linéaire, formé par des résidus de D-glucose liés par plus de 50% du total avec des liaisons glucosidiques α -(1-3), associé avec D-glu embranché en α -(1-6), insoluble dans l'eau, responsable de l'adhésion de la bactérie productrice *Lb. reuteri* à la surface des dents , en plus sans aucune application industrielle.

β -D glucanes:

glucanes, polymères de 1-3 glucose, produits par : *Pediococcus* et *Lactobacillus*.

Fructanes:

polymères de D-fructose liés 2-6, produits par des souches de *S.salivarius*, *Lb. sanfranciscensis*, et *Lb. reuteri* ; le type Inuline présente souvent des liaisons β -(2-6) ou β -(2-1), si produit par *L. reuteri* 121.

Autres comme le polygalactane :

galactose produit par des souches *L.lactis* (De Vuyst et Degeest, 1999 ; Lapointe, 2009 ; Badel et al., 2011).

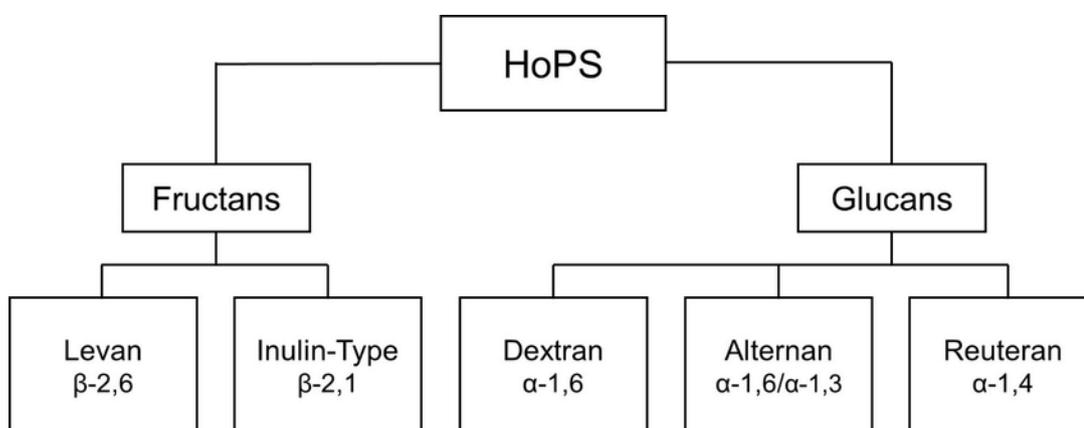


Figure 4: Classification of homopolysaccharides produced by *Lactobacillus* spp. with predominant backbone linkages

II.14.2. Hétéropolysaccharides (HePS):

Formés de plusieurs copies d'oligosaccharides construits d'unités répétitives contenant deux ou plusieurs monosaccharides dont le nombre d'unités varie entre tri et octasaccharides. Avec un enchainement de sous-unités, souvent embranchés en C2, C3, C4, or C6 (De Vuyst et al., 2001 ; Welman et Maddox, 2003), élaborés par différentes bactéries lactiques thermophiles et mésophiles.

Ils sont d'un grand intérêt rhéologique très recherché. Ils diffèrent considérablement entre les souches dans la composition, la structure et les propriétés physicochimiques. Le plus souvent formés de combinaison :

Glucose, Galactose, et Rhamnose, ainsi que le Fructose, sucres amino-acétylés, Ribose, acidglucuronique, et des constituants non carbohydate : phosphate, pyruvyl, and groupements acétyles, en faibles taux (De Vuyst et Degeest, 1999 ;Duboc et Mollet, 2001; Hutkins, 2006). Ils peuvent être encore classifiés selon la composition des monosaccharides, les liaisons entre les unités, la présence des chaînes latérales répétées, et surtout la longueur et la fréquence de l'embranchement qui affectent fortement leur propriété rhéologique ; généralement produits à l'ordre de 10–1000 mg/L avec une grande masse moléculaire entre 10⁴ et 10⁶ Da (Duboc et Mollet, 2001 ; Lapointe, 2009, Badel et al., 2011). Ils sont produits par des bactéries lactiques mésophiles (ex : *L. lactis*, *L. cremoris*, *Lb. casei*) et thermophiles (ex : *Lb. bulgaricus*, *S. thermophilus*).

II.15. Application des EPS des bactéries lactiques :

Les études sur les activités technologiques des EPS des souches lactiques ont montré plusieurs applications potentielles :

Amélioration des propriétés de texture des aliments : Les EPS peuvent modifier la viscosité, la stabilité et la texture des produits alimentaires, tels que les produits laitiers, les sauces, les desserts et les boissons. Ils peuvent également former des gels ou des films comestibles qui améliorent la qualité et la conservation des aliments. Les EPS des bactéries lactiques sont particulièrement essentielles dans les produits laitiers fermentés tels que le yaourt, le yaourt à boire, le fromage, la crème fermentée et desserts à base de lait.

Stabilisation des émulsions : Les EPS peuvent former des complexes avec les lipides, ce qui améliore la stabilité des émulsions. Cela peut être bénéfique dans la production d'aliments tels que les vinaigrettes, les sauces émulsionnées et les produits de boulangerie.

Protection des probiotiques : Certains EPS produits par des souches lactiques ont montré des propriétés protectrices vis-à-vis des probiotiques,

tels que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Les EPS peuvent former une barrière physique autour des probiotiques, les protégeant ainsi des conditions défavorables pendant le stockage ou le passage dans le système digestif.

Applications dans l'industrie cosmétique : Les EPS des souches lactiques peuvent être utilisés dans les formulations cosmétiques, notamment en tant qu'agents hydratants, émoullissants et filmogènes. Ils peuvent améliorer les propriétés sensorielles des produits de soins de la peau et contribuer à la formation d'une barrière protectrice sur la peau.

Applications dans l'industrie pharmaceutique : Les EPS peuvent également être utilisés comme excipients dans la formulation de médicaments, notamment pour améliorer la stabilité, la biodisponibilité et la libération contrôlée des principes actifs.

II.16. Biosynthèse des Eps :

La biosynthèse des EPS implique plusieurs étapes, qui peuvent varier en fonction du microorganisme spécifique. Cependant, le processus général de biosynthèse comprend les étapes suivantes :

Synthèse des précurseurs : Les sucres nécessaires à la biosynthèse des EPS sont généralement produits par des voies métaboliques spécifiques à chaque microorganisme. Ces précurseurs sont souvent des sucres simples, tels que le glucose, le fructose ou le ribose.

Activation des précurseurs : Les précurseurs de sucre sont activés par des enzymes spécifiques, qui les transforment en nucléotides de sucre activés. Ces nucléotides de sucre activés servent de substrats pour la synthèse des polysaccharides.

Transfert des unités de sucre : C'est un processus complexe impliquant de grand nombre d'enzymes et de protéines régulatrices (Sanlibaba et Çakmak, 2016). Les unités de sucre activées sont transférées par des enzymes spécialisées, appelées glycosyltransférases, sur une chaîne croissante d'EPS

en formation. Cela se produit par la formation de liaisons glycosidiques entre les unités de sucre successives.

Modification et assemblage des chaînes : Les chaînes d'EPS en croissance peuvent subir différentes modifications enzymatiques, telles que la formation de liaisons chimiques supplémentaires, l'ajout de groupes fonctionnels ou la modification de la conformation spatiale. Ces modifications contribuent à la diversité structurale des EPS.

Exportation extracellulaire : Une fois la biosynthèse des EPS terminée, les polymères sont exportés hors de la cellule pour former une matrice extracellulaire. Cela peut se faire par différentes voies, notamment l'utilisation de systèmes d'exportation spécifiques ou de canaux de sécrétion.

PARTIE III. MATERIEL ET METHODES

➤ L'origine des souches :

Au cours de cette étude, nous avons utilisé 14 souches de bactéries lactiques productrice d'EPS fournis par Mme Chahrour w, Melle Mentifa I et Bellil y, Les souches cité dans le tableau 01 ont été isolée a partir de blé fermenté, légume fermenté et lait de chamelle issuent une pré-identification.

Souches	Origine	Souches	Origine
1	1 Blé	CD	Blé
15'	15'Blé	5'	Légume fermenté
2'	2'Blé	29	Lait de chamelle
16'	16'Blé	9	Légume fermenté
3'	3'Blé	3	Lait de chamelle
17'	17'Blé	10	Légume fermenté
4'	4'Blé	26'	Lait de chamelle

Tableau représentant le code et l'origine des souches.

III.1. Pré identification

Après purification, les isolats sont pré-identifiés en se basant sur différents caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques (Badis et al., 2005).

Cette étapes a été réalisé juste pour 03 souches (1' - 3 - 10) ; Les bactéries à Gram + et à catalase négatif ont été considérées comme des bactéries lactiques présomptives (Silva et al., 2017).

III.1.1. Tests physiologiques et biochimiques

III.1.2. Type fermentaire

Ce test permet la distinction entre les bactéries lactiques homofermentaire et hétérofermentaire, grâce à la production de gaz (CO₂).

L'ensemencement des souches à tester s'effectue dans un milieu liquide MRS sans glucose et sans l'extraie de viande avec une cloche du Durham, mis à incubé à 30°C ; les tubes sont observés dans un délai de 48h en fonction de l'aspect du milieu (trouble) et la production de gaz (Garvie, 1984 ; Schilinger et Lücke, 1989).

III.1.3. Croissance à différentes températures :

Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques mésophiles des thermophiles et thermorésistant.

L'effet de ce paramètre sur la croissance des souches était conduit dans du bouillon MRS, incubé à 45°C pendant 48h, et le test de thermorésistance a été effectuée à 63°C pendant 30 min puis incubé à 300C pour 48h.

III.1.4. Croissance à différentes pH :

Ce test a pour but de différencier les souches lactiques acidophile et basophile ; Ce test a été réalisé sur bouillon MRS, dont le pH est ajusté à 4 et 9,6, et cela en ensemençant un tube contenant 7ml du bouillon MRS à pH voulue avec une colonie prise de la gélose MRS de 18h. La croissance se traduit par un trouble du milieu après 24 à 48 heures à 30°C (Guiraud et Galzy, 1980).

III.1.5. Identification par galerie Api 50

L'utilisation de la galerie API 50 CH (Biomerieux) pour l'identification des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* :

La galerie API 50 CH (de Biomerieux) composée de 49 puis contenant des substrats déshydratés appartenant aux carbohydrates et dérivés (hétérosides, polyalcools et acides uroniques), pour permettre l'étude du métabolisme. Le premier microtube sans principe actif sert de témoin négatif.

Partie III. Matériel et méthodes

En Prélever une colonie bactérienne de culture pure et l'incuber dans un milieu MRS à 30°C pendant 24Heurs, Transférer une boucle de la culture bactérienne dans un tube contenant 2ml de l'eau physiologie. Homogénéiser la suspension bactérienne.

Ajouter 150µl de la suspension bactérienne préparée dans chaque puits de la galerie API 50 CH. Placer dans un incubateur de 30°C.

Après l'incubation de 24 et 48Heurs, observer les changements de couleur, de turbidité ou toute autre réaction biochimique dans chaque puits de la galerie API 50 CH.

Comparer les résultats avec le tableau d'interprétation fourni par le fabricant pour identifier l'espèce bactérienne du genre *Lactobacillus*.

III.2. Etude de l'activité :

III.2.1. Visualisation de production des EPS :

La production d'EPS (exopolysaccharides) par les bactéries lactiques peut être observée macroscopiquement. La production d'exopolysaccharide pour les souches été réveillée par la production des colonies visqueuses.

A partir d'une culture jeune (18h) les souches ont été ensemencées sur le milieu MRS saccharosé (MRS 10% de saccharose), incubé à 30°C pendant 48h,

Les souches productrices d'EPS forment des colonies brillantes, bombées et visqueuses ; on dit alors qu'elles ont un phénotype mucoïde (Dupont, 1998). L'une des caractéristiques de ce phénotype est que lorsque l'on touche et étire la colonie avec un cure-dent, celle-ci forme un long filament.

Autrement grâce au test de Linganie (2010), la production des EPS ont été réveillée par l'apparition d'un anneau opaque après l'ajout de l'éthanol de 95% au surnageant de la culture bactérienne (après 24h d'incubation à 30°C sur milieu MRS saccharose 5%)

III.2.2. Extraction des EPS :

Parmi 14 isolats, que Trois '03' souches ont été choisis pour l'étude de l'activité antioxydant, antimicrobienne, et émulsifiante de l'extrait d'EPS.

Des cultures jeunes standardisés (à 10%) incubé a 30°C /48h, L'extraction a été réalisée selon Ismail et al, (2003) modifiée ; 100ml de la suspension a été centrifugée a 6000 rpm pendant 30 min, à 4°C les surnageant ont été récupéré sur lesquels on a ajouté deux volumes d'éthanol frais à 95° puis on laisse précipiter à 4°C pendant 24h pour précipiter les EPS. Une deuxième centrifugation à 6 000 rpm pendant 30 minutes pour récupérer la totalité des EPS précipités (cette étape été répété deux fois).

Dissolve le culot des EPS précipités avec de l'eau distillée pour obtenir une solution d'EPS.

III.2.3. Quantification des EPS par la méthode du phénol-sulfurique

Quantification des EPS par la méthode du phénol-sulfurique La quantification des glucides peut se faire par des méthodes colorimétriques dont souvent on utilise la méthode du phénol-sulfurique, qui repose sur le traçage d'une courbe d'étalon (annexe) à partie des dilutions réalisées d'une solution de stock (ou le glucose est le standard (0.1gr/l)).

Dans des tubes à essai, 40µl de phénol (80%) et 2 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) sont additionnés à 800µl d'échantillon (solution d'EPS).

Les tubes sont maintenus a l'obscurité pendant une demi-heure à température ambiante, après 30 minutes la densité optique est mesurée à 490 nm (BIBBY Anadéo) contre un blanc dans lequel 800 µl d'eau distillée remplace la solution d'EPS (Dubois et al., 1956).

Tableau 01 : préparation des dilutions de glucose

Solution de glucose 0.1g/l (ml)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau distillée (ml)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Glucose g /l (ml)	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.1

III.2.4. Formation des biofilms

Des méthodes classiques de la détection de la production de biofilm invitro ont été établies, tel que la méthode qualitative de la microplaque 96puits (Freeman et al.1989 ; Mathuretal., 2006) la formation de biofilm se manifeste par un dépôt violet.

Le but de ce test est de visualiser la formation de biofilm a partir des différents concentration de saccharose, de ce fait ; 0,1ml de différents milieux MRS à différent concentration (MRS, MRS à 5%, 10%, 20% et 25% saccharose) ont été déposée dans les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène), puis inoculés avec 0.1ml de suspension bactérienne de 18h.

La microplaque a été incubée pendant 24 heures à 30°C. Les puits sont lavés trois fois avec 0,2 ml de l'eau physiologique stérile afin d'éliminer les bactéries libres (Planctoniques). Apres Ajouter l'alcool pendant 5 minutes fixé le biofilm formé puis laver, Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) (Stepanovic et al., 2000).

L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage, la formation de biofilm se manifeste par un dépôt violet (Holà et Ruzicka, 2011).

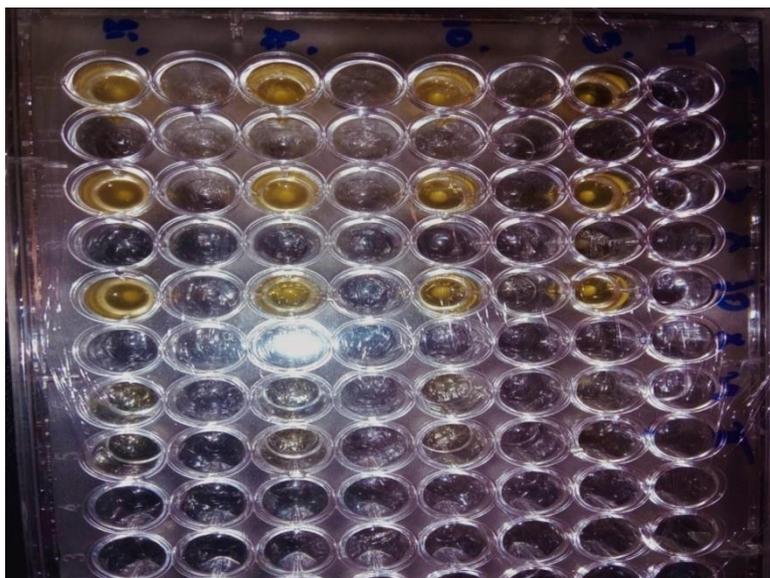


Figure 05 : Microplaque après 24Heur d'incubation

III.2.5. Activité antioxydante :

L'activité de scavenging des radicaux libres de l'EPS a été mesurée par DPPH (Pieniz et al., 2014). Un volume de 0,8 ml de solution de DPPH (0,1 mg dans du méthanol à 95 %) a été mélangé avec 0,2 ml des EPS et incubé à l'obscurité pendant 30 minutes.

Les échantillons ont ensuite été mesurés à 517 nm. Acide ascorbique (10mg/ml) a été utilisé comme témoin positif. L'activité antioxydante a été calculée à l'aide de la formule suivant :

$$\%Activité = \frac{(A_0 - A)}{A_0} * 100$$

A₀ : l'absorbance du blanc de réactif (vit C)

A : l'absorbance des échantillons d'EPS

% Activité : pourcentage d'activité antioxydante

III.2.6. Activité emulsification :

Cette réaction nécessite qu'on ajoute (V/V) une quantité égale de solution d'huile et extrait d'EPS.

Dans un tube à essai, 1,5ml d'EPS été mélangé avec 1,5ml d'huile ; l'activité émulsifiante été test avec : huile d'olive, huile de friture et pétrole et vortex pendant 5 min à 40 Hz selon la méthode expliquée par Freitas et al. (2009). L'activité émulsifiante (EA) a été déterminée après 1, 24 et 48 h pour les EPS des isolats (1' – 3 - 10).

$$\% \text{ l'index d'émulsion} = \frac{\text{hauteur de la couches emulsion}}{\text{hauteur de la mélange}} * 100$$

III.2.7. Activité antimicrobienne :

La méthode de Barefoot et Klaenhammer, 1983 a été choisi dans laquelle des puits de 5 mm de diamètre sont creusés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce (cloche de durham) sur la gélose nutritive inoculé par la souche indicatrice (Cinq souche de genre **Bacillus sp**: **Bacillus sp 26** – **Bacillus sp 36** – **Bacillus sp 19** – **Bacillus sp 37** – **Bacillus sp 43**).

Les puits ont été remplis avec 100µl du surnageant de culture et EPS de chaque culture.

Les boîtes de petri sont mises à une température de +4°C/4h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (Doumandji et al., 2010). Les boîtes sont incubées à 37°C et la présence de zones d'inhibition formées autour des puits est examinée après 24h d'incubation (Hwanhlem et al., 2011).

PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Revivification et purification des souches lactiques

Suite à la revivification des 14 souches lactiques sur bouillon MRS à 30°C pendant 48 heures, il apparaît un trouble dans les tubes. La purification de ces souches été réalisée sur MRS gélosée est confirmée par une observation macroscopique et appréciée par le test de catalase et une coloration de Gram.

Aux cours de la purification, nous avons constaté que certaines souches n'étaient pas pure, cela été réveillé par l'apparition des nouveaux caractères macroscopique, microscopique ou bien au niveau de test de Catalase ; dans ce cas-là aux cours de purification on a essayé de prendre tous types de colonies possible.

De ce fait le nombre des souches est devenues 14; aux lieux de dix souches.



Figure 06 : Revivification et purification des souches lactique

IV.1.1. Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose MRS a révélé des colonies visibles, de tailles similaires de forme ronde avec une couleur blanchâtre et de petite taille (environ 2 mm de diamètre), (voir figure 07) :

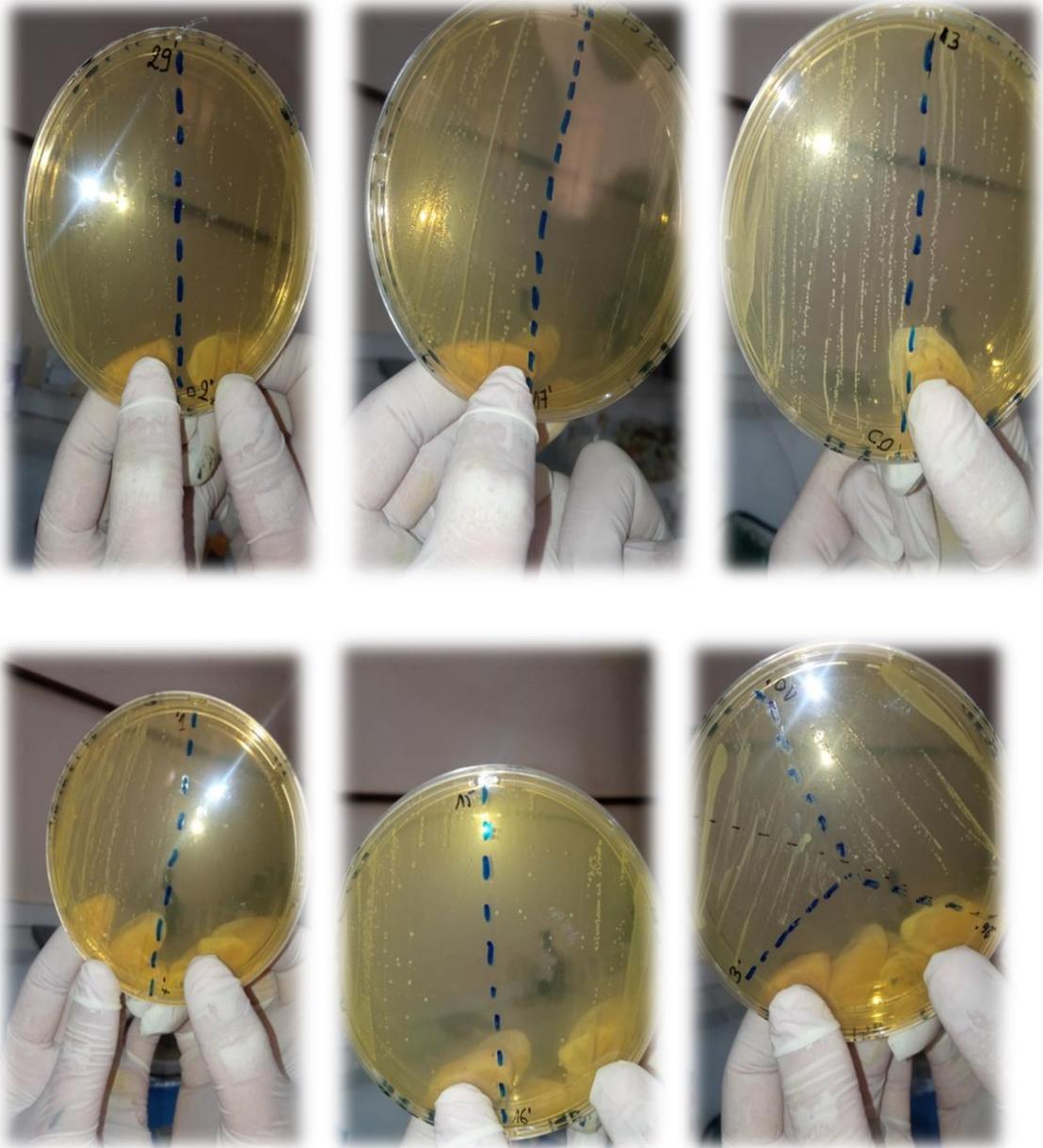


Figure 7 : Aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques

IV.1.2. Examen microscopique

La caractérisation microscopique basée sur la coloration de Gram a donné une coloration Gram positif, des bactéries de forme cocci, et bâtonnets pour les Lactobacilles (voir figures 08). Cette description confirme les résultats donnés par Carr et al., 2002.

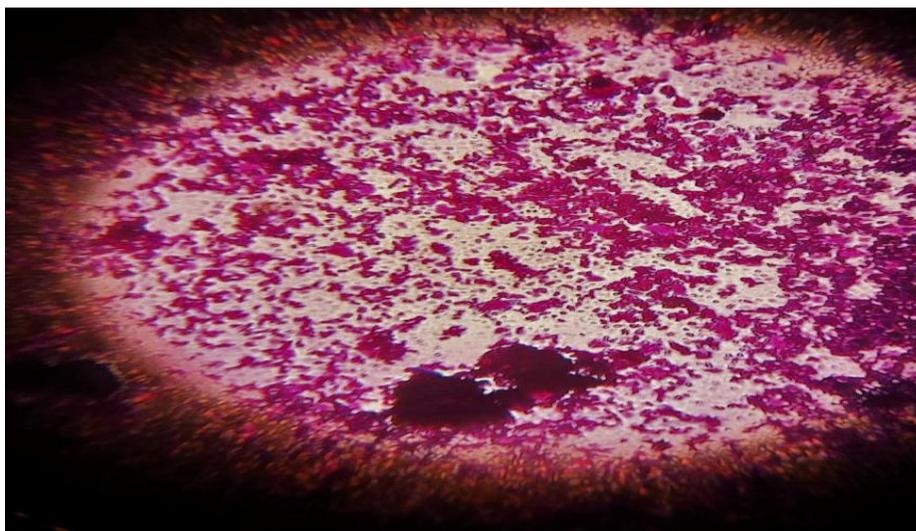


Figure 08 : Observation microscopique des souches revivifiées

IV.1.3. Test de Catalase

Le teste catalase est concédéré comme un test d'orientation, dans le que toutes les bactéries lactique sont catalase négatif ; Tous les isolats ont été Catalase négative (tableau02).

IV.2. Pré-identification des isolats

D'après le tableau 05 La souches 1' - 3 et 10 ont peut les considéré comme Lactobacillus ; Toute les souches ne possèdent pas une thermo-résistance ni acidophile, autrement peuvent croitre dans le milieu avec un pH 9.6 et à des températures élevé 45°C, donc on peut les considéré comme thermophile et basophile.

Partie IV. Résultats et discussion

La souche *Lactobacillus* 1' et *Lactobacillus* 3 ont été deux souches homofermentaire tout dis que *Lactobacillus* 10 produit le CO_2 à partir de glucose d'où le type fermentaire est hétérofermentaire.

Tableau 02: Résultats des caractères physiologiques et biochimiques des *Lactobacillus* 1 - 3 - 10.

Souches	Catalase	Gram	Type fermentaire	(63°C - 30min)	Ph		T 45°C
					pH= 4,5	pH= 9,6	
1'	-	Bacille en chainette	Homo	-	-	+	+
3	-	Bacille en diplo	Homo	-	-	+	+
10	-	Bacille en diplo	Hétéro	-	-	+	+

Il ya que la souche ' 3' subie le test d'identification d'espèce par la Galerie Api 50 (figure 09) d'où elle appartient aux: *Lactobacillus acidophilus* 1, ce genre de bactérie jouent un rôle important dans la fermentation.



Figure 09: Résultat d'identification après 24 - 48 Heurs

IV.3. Production des EPS par les bactéries lactiques :

La production des EPS a été révélée par la formation des colonies brillantes, bombées et visqueuses transparentes ; une mucosité visible à l'œil nu dans les cultures de 29 - 9 - 16' et CD surtout puisque cette souche présente des colonies de taille grande à partir de 5mm jusqu'à 1.5cm. (Figure 10).

Autrement le test de Linganier permet de confirmer la production des EPS ; surtout pour les souches qui ont poussé sur milieu MRS10% avec des colonies blanches brillantes.

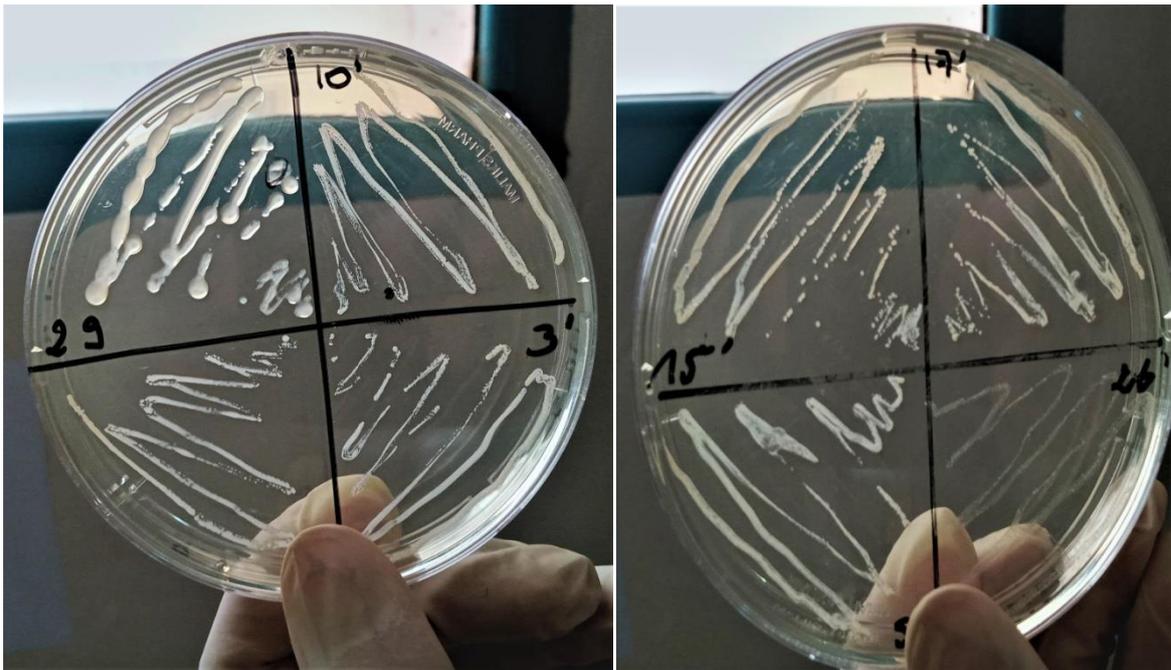




Figure 10 : Production des Exopolysaccharide par les souches lactique

IV.4. Formation des biofilm

La mise en évidence de formation des biofilms a été révéler sur une multiplaque, la croissance des souches été sur MRS saccharose avec des pourcentages varier (5%, 10%, 20%, 25%).

Le but est de savoir dans quelle pourcentage de saccharose obtient une forte formation de biofilm ; les résultats obtenus (tableau 03) montre que la plupart des souches ayant un dépôt violet au fond des puits (Stepanovic et al, 2000) cela veut dire formation de biofilm par les souches est présente lorsque on utilise 5% de saccharose.

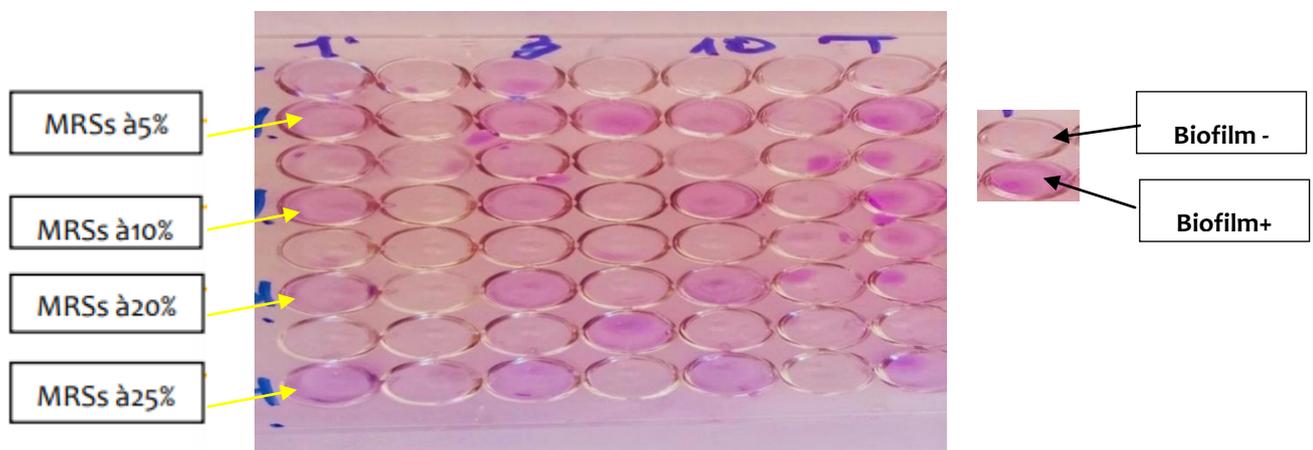


Figure 11: Résultats de formation des biofilm chez les souches Lb1', Lb3, Lb10.

Souches	Témoin	1'	3	10
MRS s 5%	-	+	+	+
MRS s 10%	-	+	+	+
MRS s 20%	-	+	+	+
MRS s 25%	-	+	+	+

Tableau 03 : Lecture de résultat de formation des biofilm

IV.5. L'extraction et quantification des EPS

Extraction et dosage des polysaccharides produit dans le bouillon MRS hypersaccharosée, après purification les EPS par précipitation à l'alcool, il est possible de doser ces dernière par méthodes colorimétrique par l'acide sulfurique et phénol ; cette quantification est basé sur le dosage des sucres totaux en se référant à une courbe d'étalonnage du glucose à révéler des seuils de production qui varie entre 0.181g/l , 0.164g /l et 0.09 g/l des souches Lb 1' , Lb 3et Lb 10 respectivement.

Ces résultats sont inferieur aux travaux de Abo saif et Sakr (2020) qui ont pu isoléeo.5g jusqu'à 1g d'EPS par souche.

La quantité d'exopolysaccharide (EPS) produite par les souches lactiques peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que le type de souche, les conditions de culture et les substrats utilisés.

IV.6. Activité antioxydante :

L'activité antioxydants de nos souches et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 600 nm. (Bozin et al., 2008).

L'activité antioxydante des EPS des souches de *Lactobacillus ssp* a été évaluée par le piégeage des molécules du radical libre DPPH ; d'où les résultats du pouvoir antioxydant des souches testées affichent des pourcentages d'inhibition du radical DPPH appréciables allant de 84%, 89 % et

90 % pour les souches *Lactobacillus* 1', 3 et 10 (Figure 12) ; L'acide ascorbique a présenté la meilleure activité antioxydante, qui a été atteinte un pourcentage d'inhibition de 94% la concentrations de 20mg/ml.

Ces résultats est presque similaires aux travaux Wang et al., 2017. Alors que Li et al. (2012) affichent une activité de piégeage du radical DPPH de 53.05% avec *Lactobacillus planétarium* C88. (meilleurs résultats)

Les EPS ont un rôle vital en tant que piègeurs de radicaux libres dans l'inhibition des dommages oxydatifs dans les organismes vivants et peuvent être considérés comme un antioxydant potentiel unique (Adebayo-Tayo et al., 2018) En conséquence, les EPS des *Lactobacillus* peuvent être une substance antioxydante potentielle qui peut s'appliquer dans les aliments fonctionnels.

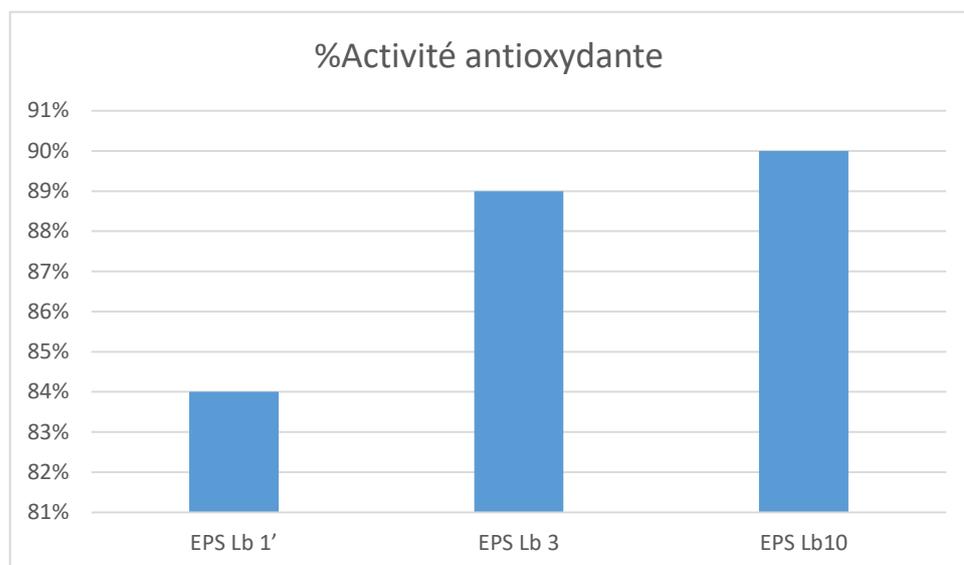


Figure 12 : Résultat d'activité antioxydante

IV.7. Activité d'émulsification

Ce test d'émulsification été réalisé entre EPS LB1' et EPS LB3 et EPS LB 10 vis a vie L'huile d'olive, l'huile de friture et pétrole. Les indices d'émulsification

Partie IV. Résultats et discussion

(E1) des EPS ont été présentés dans la figure 13, les résultats sont présentés sous forme de graphe (figure 14 - 15 et 16)

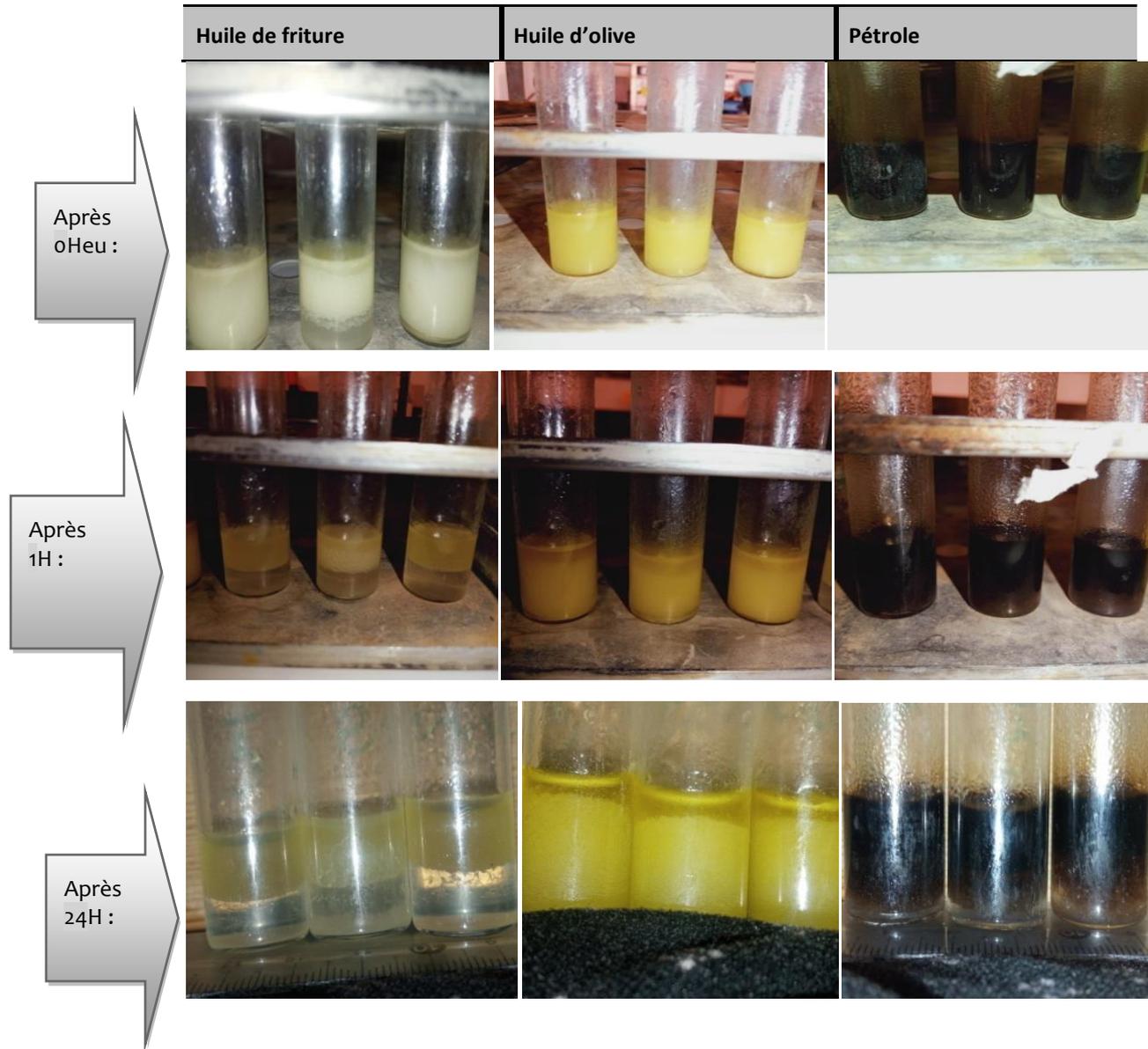




Figure 13: Résultat d'activité émulsifiante des EPS LB1', EPS LB3 et EPS LB10

Figures '13' représente les résultats de l'activité émulsifiante en 1h, 24h, 48h pour les EPS LB 1' et EPS LB3 et EPS LB 10 vis à vis l'huile d'olive, l'huile de friture et pétrole.

- A zéro heures, on observe que la valeur de l'indice émulsion était la plus élevée (46.66%) pour l'huile d'olive pour EPS LB 1' et EPS LB10, par rapport aux valeurs minimales (26.66%) pour le pétrole pour l'EPS LB 10.

- Entre une heure et 24h, on observe une stabilité de la valeur de l'indice émulsion dans tous les souches d'où l'indice de émulsion d'EPS LB 10 était le plus supérieur (46.66%) avec l'huile d'olive ; et 16.66% avec huile de friture et 20% pour le pétrole.

- A 48h le pourcentage le plus important d'indice d'émulsion était chez les EPS LB 10 (43.33% pour huile d'olive), et plus faibles chez EPS LB 3 et EPS LB1' avec un pourcentage 3.33% pour huile d'olive et l'huile de friture respectivement.

- On remarque que les EPS de nos souches représentent des valeurs supérieures de 40% et presque stable pour huile d'olive et pétrole, sauf on remarque que le pourcentage est inférieur (3.33 et 6.66%) pour huile de friture vis à vis EPS LB 1' et 3 respectivement.

La valeur de l'indice était la plus élevée pour EPS B1 (36.60 %) après 1 heure d'incubation. L'activité émulsifiante pour EPSB12 et EPSMB2 était de 30 et 33.30 % respectivement, cette activité est restée stable pendant 48 heures pour EPSB1. Une petite augmentation de l'activité notée après 48 heures (de 33.30% en 24h vers 36.6 %) pour EPSB12 et une augmentation en 24h puis une stabilisation pour EPS MB2 (36.60%).

Les micelles se forment lorsque les parties hydrophobes incapables de former des liaisons hydrogène dans la phase aqueuse, elles s'unissent et se déplacent vers le centre laissant les parties hydrophiles vers l'extérieur bien que l'agitation par vortex permette d'isoler les molécules hydrophobes du solvant et de les piéger à l'intérieur des micelles (Haigh, 1996).

Une émulsifiante efficace doit être maintenue à au moins 50 % du volume d'émulsion initial jusqu'à 24 heures après sa formation (Willumsen & Karlson, 1996). Donc selon les résultats les EPS des souches de lactobacillus ne possèdent pas une activité émulsifiante, cela peut expliquer par la faible quantité d'EPS utilisée puisque les travaux de Abo saïf et Sakr (2020) ont montrés qu'il existe une relation entre la concentration des EPS et activité ; en augmentant la concentration de la solution d'EPS à 10 mg/ml, les indices d'émulsion ont progressés.

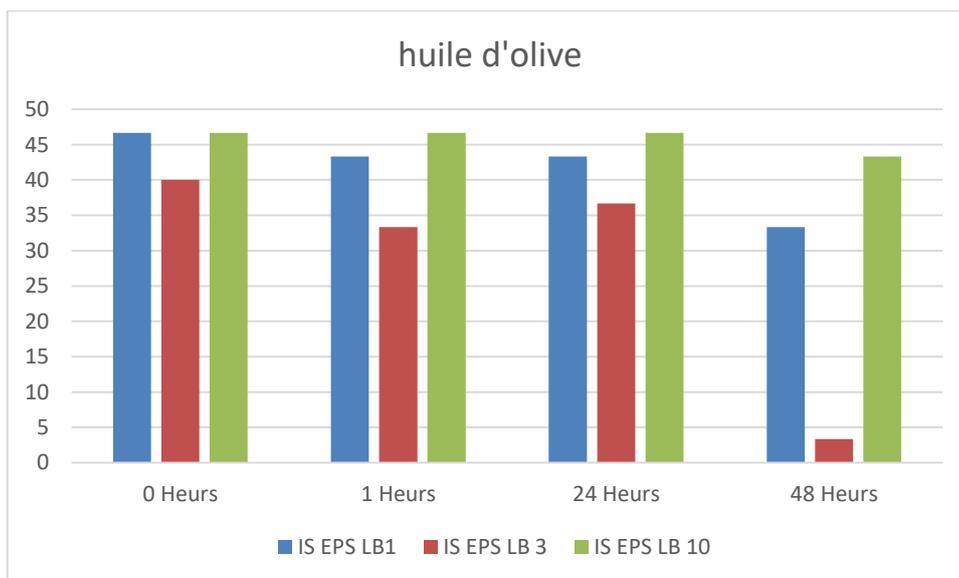


Figure 14 : les résultats de l'activité émulsifiant en 1h, 24h, 48h pour les EPSLB 1' et EPS LB3et EPS LB 10 vis à vie l'huile d'olive.

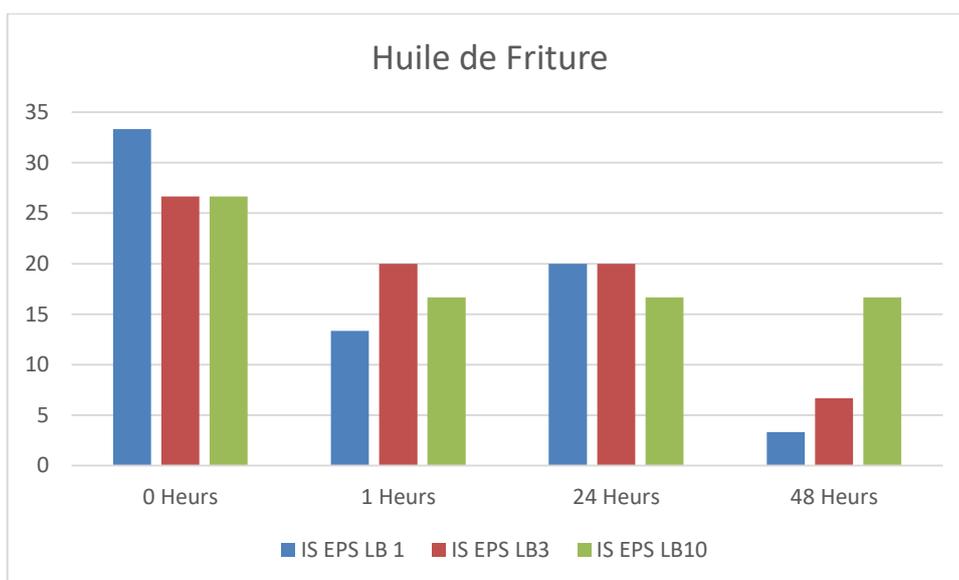


Figure 15 : les résultats de l'activité émulsifiant en 1h, 24h, 48h pour les EPSLB 1' et EPS LB3et EPS LB 10 vis à vie l'huile de friture.

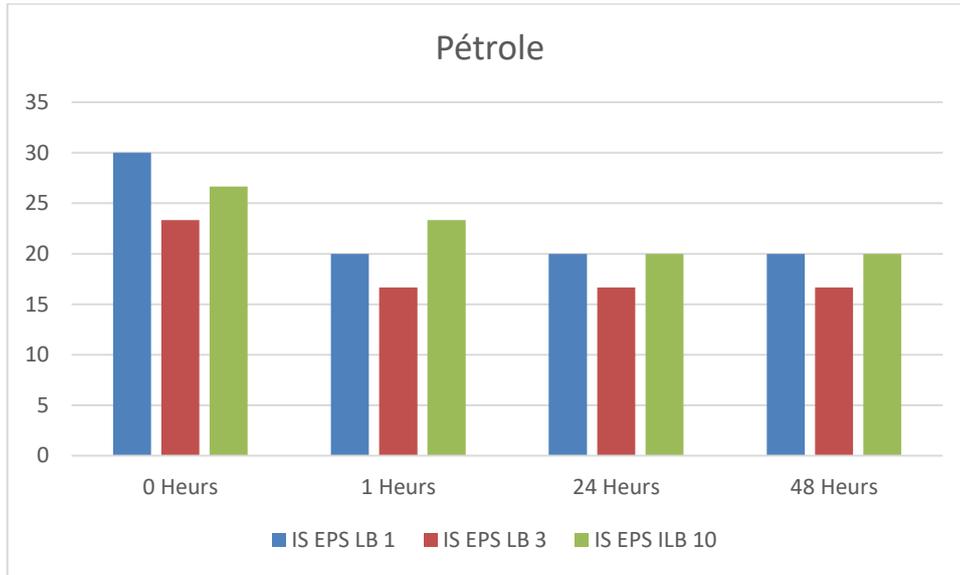


Figure16 : les résultats de l'activité émulsifiante en 1h, 24h, 48h pour les EPSLB 1' et EPS LB3et EPS LB 10 vis à vie pétrole.

IV.8. Activité antimicrobienne :

Les zones d'inhibition après 48 Heures : les codes des souches indicatrices par ordre : *Bacillus sp26* –*Bacillus sp36* –*Bacillus sp19* –*Bacillus sp37* –*Bacillus sp 43*.

La figure '17' représente les Les zones d'inhibition des EPS 1 ;3 et 10 contre *Bacillus sp26* –*Bacillus sp36* –*Bacillus sp19* –*Bacillus sp37* –*Bacillus sp 43*.

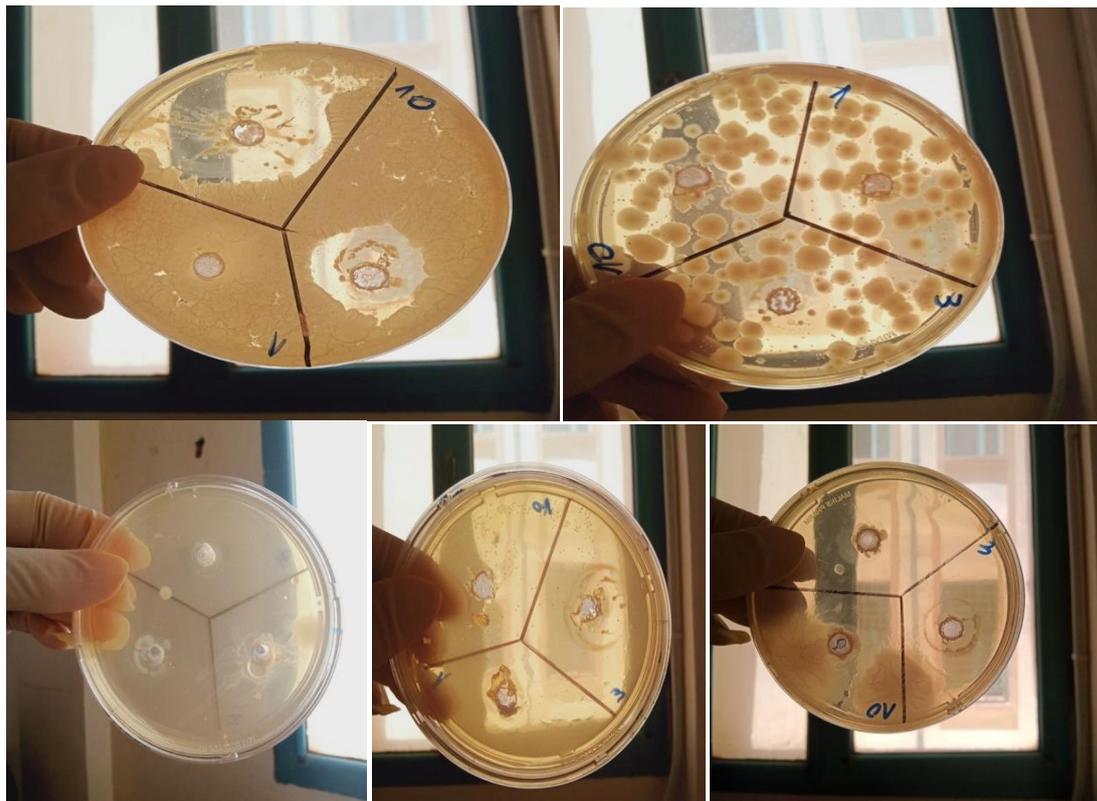


Figure 17 : Les zones d'inhibition des EPS contre les souches indicatrices.

L'activité antimicrobienne des souches lactiques présente des zones d'inhibition allant de 0,2 à 2,3. Ce qui indique leur capacité à inhiber la croissance des souches pathogènes ciblées. Cette propriété antimicrobienne peut être attribuée à la production de substances telles que les bactériocines, qui sont des peptides antimicrobiens produits par les bactéries lactiques. Cette activité peut avoir des applications dans la préservation des aliments et la lutte contre les infections microbiennes.

Tableau 4 : Résultat des zones d'inhibition

(Cm)	Lb1'	Lb3	Lb 10
19	1,1	0,9	0,4
37	1,1	1,2	0,5
43	1,9	1,7	0,7
36	0,2	0,7	0,4
26	0,2	2,3	1,6

PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Le présent travail vise la mise en évidence des aptitudes technologiques des EPS extraits à partir des souches lactiques de genre *Lactobacillus* isolées à partir de blé - légume fermenté et lait de chamelle.

On conclut que ces résultats représentent un Clé d'orientation pour d'autre recherche approfondie.

On note que les isolats CD - 29 - 09 - 16' ont la capacité de produire le d'extrane.

Les souches de genre *Lactobacillus* 1', *Lactobacillus* 3 et *Lactobacillus* 10 ont la capacité d'adhérées sur des surfaces inertes, ce caractère est l'un des critères important pour les probiotiques ;

L'EPS Lb 10 possède une activité antibactérienne importante en vers *Bacillus sp* en plus une activité plus au moins importante pour le test émulsifiant.

Ces souches nécessitent une étude très approfondie ; on propose cette stratégie : Identification des souches, extraction des EPS (utilisant un protocole exacte approprié) et une étude étalée pour chaque test.

PARTIE VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Ammor, M. S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food microbiology*, 24(6), 559-570.

Mermelstein, N. H. (2018). Combating antibiotic resistance. *Food Technology*, 72(3), 62-68.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2020). *Medical Microbiology E-Book*. Elsevier Health Sciences.

OMS, (2020). *Résistance aux antimicrobiens*. Organisation mondiale de la santé. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.

Karam. Z. (1998). Bactéries lactiques isolées de lait de *Camelus dromedarius*: Etude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologique, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Université d'Oran: Thèse doctorat d'état. <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH5086.pdf>.

Rogers, P.L., Chen, L., and Jameison, D. (2006). *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology* (3rd ed.). ASM Press.

(Prescott, L.M., Harley, J.P., and Klein, D.A. 2010). *Microbiology* (7th ed.). McGraw-Hill Education.

James, G.A., Swogger, E., Wolcott, R., et al. (2005). Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 13(2), 1-12.

Talon, R., Leroy, S., and Lebert, I. (2007). Technological and ecological aspects of lactobacilli and lactococci in fermented milk products. *Lait*, 87(4-5), 1-26.

Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., et al. (2011). Probiotics and its functionally valuable products - a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(5), 1-17.

Parties VI. Références bibliographiques

Farnworth, E. R. (2005). Handbook of Fermented Functional Foods. CRC Press.

Cocolin, L., & Ercolini, D. (2008). Molecular techniques in food microbiology: An update. Food research international, 41(8), 739-755.

Zourari, A., Accolas, J. P., & Desmazeaud, M. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria in milk. Lait, 72(1), 1-34.

Beijerinck, M. W. (1901). Über Spirillum desulfuricans und einige andere sulfatreduzierende Organismen. Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, 29, 95-96.

Adams, J.M., Moss, B. (2000). Vaccinia virus DNA replication. In DNA Replication in Eukaryotic Cells (pp. 131-162). Springer, Boston, MA.

Tailliez, P. (2004). Genomics of lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 28(3), 281-301.

De Vos, P., Garrity, G., Jones, D., et al. (2009). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes. Springer Science & Business Media.

De Man, J.C., Rogosa, M., & Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. Journal of Applied Bacteriology, 23(1), 130-135.

(Roissart et Luquet, 1994 ; Ozgan et Vural, 2011). Roissart, H., & Luquet, F.M. (1994). Isolation and identification of lactobacilli from poultry and rabbit faeces. Veterinary Research, 25(3-4), 186-192.

Ozgan, M., & Vural, A. (2011). Isolation, characterization and selection of Lactobacillus species from traditional Turkish dairy products. African Journal of Biotechnology, 10(50), 10212-10220.

Dellaglio, F., & Felis, G.E. (2005). Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. Current Issues in Intestinal Microbiology, 6(2), 1-13.

Tamang, J.P., Shin, D.H., Jung, S.J., & Chae, S.W. (2016). Functional properties of microorganisms in fermented foods. Frontiers in Microbiology, 7, 578

Parties VI. Références bibliographiques

Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (Eds.). (2007). *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology* (3rd Ed.). Woodhead Publishing.

Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of food microbiology*, 50(1-2), 131-149.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., et al. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-514.

List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature - Genus *Lactobacillus*. Available at: <http://www.bacterio.net/lactobacillus.html>

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., et al. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858.

Tamang, J. P., Shin, D. H., Jung, S. J., & Chae, S. W. (2016). Functional properties of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented vegetables of the Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 22-31

Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (Eds.). (2007). *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology* (3rd edition). Woodhead Publishing.

Caplice E., & Fitzgerald G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131-149.

Hill C., Guarner F., Reid G., et al. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-514.

Gänzle, M.G. (2015). Proteolytic Activity of Lactic Acid Bacteria and Their Impact on the Ripening of Cheese. *Foods*, 4(4), 473-498

Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2017). *Yogurt: Science and Technology* (4th ed.). CRC Press.

Licitra, G., & Ogier, J. C. (2018). Cheese flavor produced by bacteria. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Vol. 1, pp. 437-468) Elsevier.

ogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernández, M., ... & Leroy, F. (2017). Biodiversity of lactic acid bacteria and other acidogenic bacteria in the environment. In *Lactic Acid Bacteria* (pp. 3-50). John Wiley & Sons.

Dertli, E., Mercan, E., & Çon, A. H (2020). Potential applications of lactic acid bacteria for the improvement of functionality and safety of dairy-based emulsions. *Foods*, 9(5), 585.

Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1121-1135.

Salquebre, G., & Spinnler, H. E. (2018). Lactic acid bacteria as emulsifiers: An innovative approach in food science and technology. *Advances in Colloid and Interface Science*, 256, 292-304.

Venegas-Cubillos, G., & Klotz, B. (2020). Biotechnological applications of lactic acid bacteria in the food industry. In *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* (pp. 177-200). Springer.

Xu, R., Wang, R., Li, Y., Wu, H., Li, H., & Li, Z. (2021). Antioxidant activity of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: Structure, production and application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 177, 447-458.

Parties VI. Références bibliographiques

Wang, Y., Wu, Y., Wang, S., & Xu, Y. (2018). Antioxidant activities of *Lactobacillus plantarum* via scavenging reactive oxygen species and inhibiting lipid peroxidation. *Journal of Functional Foods*, 40, 637-645.

Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S., von Wright, A., & von Wright, A. (2019). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. CRC Press.

Muhammed, M. K., & Al-Saadi, A. A. (2020). Biofilm formation by lactic acid bacteria and its significance in dairy industry: A review. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(3), 407-416.

(Mercier, A., Durrieu, C., Briandet, R., & Domakova, E., 2020). Biofilm formation by lactic acid bacteria: A review. *Biofouling*, 36(7), 783-802.

Oliveira, M., Abadias, M., & Usall, J. (2015). Biofilm formation by spoilage bacteria on minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 419-429.

Sánchez Mainar, M., & Lerayer, A. L. (2018). Antifungal activity of lactic acid bacteria strains isolated from grape must fermentation. *Food Control*, 92, 341-349.

Settanni, L., & Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 123-138.

Papagianni, M. (2003). Ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function, and applications. *Biotechnology Advances*, 21(6), 465-499.

Cerning (1990) est une référence bibliographique qui peut être utilisée pour approfondir l'étude des souches lactiques.

Sanchez, B., Ruas-Madiedo, P., & de los Reyes-Gavilan, C. G. (2005). Methodologies for studying the gastrointestinal functionality of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 93(S1), S31-S34.

Parties VI. Références bibliographiques

Badel, S., Bernardi, T., Michaud, P., & Newsted, J. L. (2011). Multifunctional antimicrobial proteins and peptides: natural sources of inspiration for combinatorial biotechnology. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 17(4), 331-347.

Vuyst, L. D., & Degeest, B. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 153-177.

Lapointe, G. (2009). Lactic acid bacteria in dairy products. In *Lactic Acid Bacteria* (Vol. 1, pp. 165-206). CRC Press.

Badel, S., Bernardi, T., Michaud, P., & Newsted, J. L. (2011). Multifunctional antimicrobial proteins and peptides: natural sources of inspiration for combinatorial biotechnology. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 17(4), 331-347.

De Vuyst, L., De Vin, F., Vanningelgem, F., & Degeest, B. (2001). Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 687-707.

Welman, A. D., & Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 21(6), 269-274.

De Vuyst, L., & Degeest, B. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 153-177.

Duboc, P., & Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11(9), 759-768.

Hutkins, R. W. (2006). Microbial exopolysaccharides: current status and future challenges. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(3), 205-222.

Duboc, P., & Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11(9), 759-768.

Parties VI. Références bibliographiques

Lapointe, G. (2009). Lactic acid bacteria in dairy food: surface characterization and interactions with food matrix components. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(3), 385-397.

Badel, S., Bernardi, T., Michaud, P., & Newsted, P. (2011). Biofilm formation by lactic acid bacteria isolated from dairy products. *Food Control*, 22(3-4), 485-492.

PARTIE VII. ANNEXES

VII.1. Annexe

o **Activité émulsification :**

Il est important de noter que l'activité d'émulsification peut varier selon les souches de bactéries lactiques. Par conséquent, des études spécifiques sont nécessaires pour évaluer et sélectionner les souches appropriées ayant une activité d'émulsification souhaitée pour des applications spécifiques.

o **Activité aromatique :**

Il convient de noter que la composition et l'intensité des arômes produits par les bactéries lactiques peuvent varier en fonction des souches bactériennes utilisées, des conditions de fermentation (température, pH, durée), ainsi que des substrats disponibles. Ces facteurs influencent la production et l'équilibre des composés aromatiques dans les produits fermentés.

o **Activité antioxydante :**

Il convient de noter que l'activité antioxydante peut varier selon les souches de bactéries lactiques. Par conséquent, des études spécifiques sont nécessaires pour évaluer et comparer les activités antioxydantes des différentes souches et pour déterminer leur potentiel d'application dans divers contextes.

o **Formation de biofilm :**

Il convient de noter que les biofilms formés par les bactéries lactiques peuvent également présenter des avantages potentiels dans certains contextes, notamment dans la production de certains produits alimentaires fermentés où ils contribuent à la texture, à la saveur et à l'arôme caractéristiques. Cependant, un contrôle strict est nécessaire pour éviter les risques liés à la contamination et à la qualité des produits.

Composition de milieu :

Pour 1 litre d'eau distillée :

Composant :	Quantité (gram):
Peptone	10
Extraits de viande	10
Acétate de sodium	05
Extrait de levure	05
Glucose	20
Sulfate du magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05
Phosphate diplomatique	02
Agar-agar	17

la conservation inclinée des bactéries lactiques :

Préparation du milieu incliné : Préparez un milieu de culture solide approprié pour les bactéries lactiques, tel qu'un milieu MRS (Man, Rogosa, Sharpe). Stérilisez le milieu de culture et laissez-le refroidir à environ 45-50°C.

Inoculation des bactéries : À l'aide d'une boucle stérile, prélevez une petite quantité de culture bactérienne active et étalez-la en une fine ligne sur la surface inclinée du milieu de culture. Faites plusieurs lignes inclinées pour différentes souches bactériennes si nécessaire.

Incubation : Laissez les milieux inclinés solidifier à température ambiante pendant quelques minutes, puis placez-les dans une incubatrice adaptée à la

croissance des bactéries lactiques. L'incubation se fait généralement à une température comprise entre 30 et 37 degrés Celsius, selon les exigences spécifiques de la souche bactérienne .

Stockage : Après une incubation appropriée, les milieux inclinés contenant les bactéries lactiques sont prêts pour le stockage. Scellez les flacons ou les tubes hermétiquement pour empêcher la contamination et placez-les dans un réfrigérateur à une température de 2 à 8 degrés Celsius.

Lorsque vous souhaitez réactiver les bactéries pour une utilisation ultérieure, il suffit de prélever une boucle de la culture inclinée et de l'inoculer dans un milieu de culture liquide approprié pour la croissance bactérienne.

La conservation à long durée :

Voici les étapes générales pour cette méthode :

Préparation du milieu de conservation : Mélangez du lait écrémé stérile avec du glycérol pour obtenir une concentration finale de glycérol généralement comprise entre 10% et 20%. Le glycérol agit comme un agent de protection pour les bactéries lorsqu'elles sont congelées.

Culture bactérienne : Prélevez une petite quantité de culture bactérienne active et inoculez-la dans le mélange de lait écrémé et de glycérol préparé. Assurez-vous que la culture bactérienne est bien mélangée dans le milieu de conservation.

Aliquotage : Répartissez le mélange de culture bactérienne et de milieu de conservation en petites aliquotes dans des tubes Eppendorf ou d'autres récipients appropriés pour la congélation.

Congélation : Placez les tubes ou les récipients contenant les aliquotes dans un congélateur à une température appropriée, généralement à -80 degrés Celsius. Assurez-vous que la congélation se fait rapidement pour minimiser les dommages causés par la formation de cristaux de glace.

Stockage : Les bactéries lactiques ainsi congelées peuvent être conservées à long terme à une température de congélation, généralement -80

degrés Celsius. Dans ces conditions, les bactéries lactiques peuvent rester viables pendant plusieurs années.

Lorsque vous souhaitez réactiver les bactéries pour une utilisation ultérieure, décongelez une aliquote en la plaçant dans un bain-marie à une température appropriée. Transférez ensuite la suspension décongelée dans un milieu de culture liquide pour permettre la croissance des bactéries.