



N° d'ordre :

N° de série :

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 الشهيد حمه لخضر الوادي  
Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية  
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

### THEME

**Contribution à l'étude de l'effet des extraits végétaux sur les aptitudes technologiques des souches lactiques isolés à partir du fromage frais à base du lait camelin**

Présenté par :

**GHRIBI Anfal ; SAHRAOUI Afef ; NAJAH Naoures**

Devant le jury composé de :

**Présidente : BOUTELIS Safia** M.A.A, Université d'El Oued.

**Examinatrice : BOURAS Biya** M.A.A, Université d'El Oued.

**promoteur : LAICHE Ammar Touhami** M.C.B, Université d'El Oued

- Année universitaire 2021/2022 -

## Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour la réalisation de ce modeste travail.

C'est un grand honneur pour nous d'avoir eu la chance de travailler avec le Dr LAICHE AMMAR TOUHAMI notre promoteur. Nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements les plus chaleureux pour son aide le plus précieux, son apport constructif, ses encouragements ses conseils, sa grande disponibilité et surtout sa modestie qui est aussi grande que son mérite.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres de jury : Mme BOUTELIS a qui nous avons l'honneur par sa présence en qualité de présidente de jury, Mme Bouras qui a accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.

Nos remerciements chaleureux à l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département biologie, qu'ils veuillent bien recevoir ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

Nous soulignons notre reconnaissance aux enseignants de la faculté des sciences de la nature, leur précieux conseils et leur disponibilité.



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à ma famille qui m'a encouragé et m'ont soutenu durant mes études et particulièrement à Ma mère chérie et mon père adoré qui ont toujours été à mes côtés et crus en mes potentialités sans oublier leur inspiration pour la persévérance et la quête de la réussite. Mes parents qui m'ont toujours soutenu et étaient ma "force motrice" pour travailler avec plus de courage et, à qui j'éprouve un profond respect, que dieu leur garde et leur prête une longue vie.*

*A ma chère sœur Narimane et mon petit frère Nader*

*A notre petite ange ma nièce Nejma*

*A ma cousine Asma pour son aide, ses précieuses conseils et sa disponibilité.*

*A mon amie intime Khadija, mes copines Afef et Anfal*

*A toutes les personnes qui nous ont aidés à accomplir ce travail, surtout mon meilleur encadreur Dr LAICHE AMMAR TOUHAMI*

*Naoures*





# *Dédicace*

*Avant tout je remercie ALLAH le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la force, la santé, et la patience pour pouvoir accomplir ce travail.*

*Du profond de mon Cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chères,*

## ***À ma chère Mère***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction, Je vous remercie pour votre soutien et votre amour.*

## ***À mon cher père***

*Pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien, ses sacrifices et toutes les valeurs qu'il a su m'inculquer,*

## ***Chers frères et chères sœurs***

*Vous qui m'admirez tant, qui avez toujours été présents dans mes moments de faiblesses par votre soutien surtout mes frères Samir et Soufiane Je vous exprime à travers ce travail mes émotions de fraternité et d'amour,*

## ***Ma belle amie***

*Marwa qui m'a aidé et qui a toujours été à mes côtés et m'a soutenu*

*A tous mes chers amis*

## ***Mon promoteur***

*Mr LAICHE A.T ses orientations et ses conseils ainsi que pour le temps qu'il nous a consacré pour la réalisation de ce travail*

**Afef**





# *Dédicace*



*A la lumière de mes yeux et le bonheur de mon existence les  
plus chères et les plus idéaux*

*homme et femme dans ma vie mon père « Abdel Aziz » et  
ma mère « wassila » pour l'amour qu'ils m'ont porté et pour leur  
soutient et conseils, m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma grande affection et amour*

*je dédie ce travail à mes chers frères : Abdel monaim , Okba , Abdel madjed , Thabet . et  
ma belle sœur : Fatima.*

*Et a toutes mes amies sans exception*

*Un spéciale dédicace à mes magnifiques et merveilleuse amies «naoures et sonia.».*

**Anfal**



## Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet d'extrait végétaux sur l'amélioration des aptitudes technologiques de quelques bactéries lactiques isolées à partir du fromage traditionnel camelin dans la région d'El oued.

La fabrication du fromage a été effectuée par une méthode traditionnelle. L'identification des souches isolées a été basée sur les critères morphologiques, biochimiques et physiologiques. Quatre isolats de bactéries lactiques ont été identifiés, les espèces appartenant au genre *Lactococcus*, au genre *Pediococcus* et au genre *Streptococcus* (*Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici* et *Streptococcus thermophilus*).

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence divers composants dans les feuilles de les deux plantes dont la présence des polyphénols, flavonoïdes, saponines, quinones libres, glucosides cardiaques et sucres réducteurs. Les analyses quantitatives effectuées ont montré que l'extrait de les plantes est faible en polyphénol totaux avec une teneur de 1.68 mg EAG/g pour *Olea Europaea L.*, et une teneur de 1.44 mg EAG /g pour *Thymus vulgaris L.*

Les résultats de l'évolution des aptitudes technologiques des souches étudiées indiquent un pouvoir acidifiant important pour le genre *Lactococcus*, *Pediococcus* après 3h d'incubation en présence des extraits de par rapport *Thymus vulgaris L.* et *Olea europaea L.* au témoin. Seulement l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris L.* donne un résultat important de l'acidité dornique 42°, pH 5.4 après 24h d'incubation chez le genre *Lactococcus*, aussi que *Olea europaea L.* présente un effet remarquable chez *Pediococcus* dans la même période. L'activité protéolytique est moyenne par rapport au témoin en présence de l'extrait de *Thymus vulgaris L.* Les deux souches isolées au cours de notre étude n'ont pas la capacité de dégrader les lipide et absence totale du pouvoir lipolytique.

**Mots clés:** Lait camelin, Fromage frais, bactéries lactiques, Extraits végétaux, Aptitudes technologiques.

## Abstract

The objective of our work is to study the effect of plant extracts on the improvement of the technological aptitudes of some lactic acid bacteria isolated from traditional camel cheese in the region of El Oued.

The manufacture of the cheese was carried out by a traditional method. The identification of the isolated strains was based on morphological, biochemical and physiological criteria. Four isolates of lactic acid bacteria have been identified. Species belonging to the *Lactococcus* genus, the *Pediococcus* genus and the *Streptococcus* genus (*Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici* and *streptococcus thermophilus*).

The phytochemical tests carried out made it possible to highlight various components in the leaves of the plants including the presence of polyphenols, flavonoids, saponins, free quinones, cardiac glucosides and reducing sugars. The quantitative analyzes carried out showed that the plant extract is low in total polyphenols with a content of 1.68 mg EAG/g for *Olea Europaea.L*, and a content of 1.44 mg EAG/g for *Thymus vulgaris.L*.

The results of the evolution of the technological aptitudes of the strains studied indicate a significant acidifying power for the genus *lactococcus*, *pediococcus* after 3 hours of incubation in the presence of extracts of *Thymus vulgaris L.* and *Olea europaea L.* compared to the control. Only the aqueous extract of *Thymus vulgaris L.* gives a significant result of Dornic acidity 42°, pH 5.4 after 24 hours of incubation in the genus *lactococcus*, also that *Olea europaea L.* presents a remarkable effect in *pediococcus* in the same period. Proteolytic activity is average compared to the control in the presence of the extract of *Thymus vulgaris L.* The two strains isolated during our study do not have the capacity to degrade lipids and total absence of lipolytic power.

**Keywords:** Camel milk, Fresh cheese, lactic acid bacteria, Plant extracts, Technological properties.

## الملخص

الهدف من عملنا هو دراسة تأثير المستخلصات النباتية على تحسين المهارات التكنولوجية لبعض بكتيريا حمض اللبن المعزولة عن جبن الإبل التقليدي في منطقة الوادي.

بعد تصنيع الجبن بالطريقة التقليدية. استند تحديد السلالات المعزولة على معايير مورفولوجية وكيميائية حيوية وفيزيولوجية. تم عزل اربعة انواع للبكتيريا اللبنية. الأنواع التي تنتمي إلى جنس *Lactococcus* و *Pediococcus* و *Streptococcus thermophilus* و *Lactococcus lactis* و *Pediococcus acidilactici*.

سمحت الاختبارات الكيميائية النباتية التي تم إجراؤها بإبراز المكونات المختلفة في أوراق النباتين ، بما في ذلك وجود البوليفينول والفلافونويد والصابونين والكينونات الحرة وجليكوسيدات القلب والسكريات المختزلة. أظهرت التحليلات الكمية التي تم إجراؤها أن المستخلص النباتي منخفض في إجمالي البوليفينول بمحتوى 1.68 ملغ / EAG لـ *Olea Europaea.L* ومحتوى 1.44 ملغ / EAG لـ *Thymus vulgaris.L*.

تشير نتائج تطور القدرات التكنولوجية للسلالات المدروسة إلى وجود قوة حمضية معنوية للجنس *Pediococcus*، *lactococcus* بعد 3 ساعات من الحضارة في وجود مستخلصات *Thymus vulgaris L* و *Olea europaea L*. مقارنة بالشاهد. ان المستخلص المائي من *Thymus vulgaris L* اعطى نتيجة ملحوظة في الحموضة المعاييرة 42 درجة ، ودرجة حموضة 5.4 بعد 24 ساعة من الحضارة في جنس *lactococcus* ، كما أن *Olea europaea L*. يقدم تأثيراً ملحوظاً في بكتيريا *Pediococcus* في نفس فترة الحضارة . كانت نتائج نشاط التحلل البروتيني متوسطاً مقارنةً بالشاهد في وجود مستخلص نبات *Thymus vulgaris.L* . السلالتان المعزولتان أثناء دراستنا ليس لديهما القدرة على تحلل الدهون والغياب التام لقوة التحلل الدهني .

**الكلمات المفتاحية:** حليب الإبل ، الجبن الطازج ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، المستخلصات النباتية ، المهارات التكنولوجية.

**Liste d'Abréviation :**

**Cm** : centimètre

**EH** : extrait hydroalcoolique

**EA** : extrait aqueux

**Mg** : milligramme

## Liste des Figures

n°	Titre	Page
01	Schéma Général de la fabrication du fromage frais	10
02	Bactéries lactique sous microscope électronique	16
03	Figure 03 : Les principales voies métaboliques des bactéries lactiques	17
04	Figure 04: (a) la forme cocci, (b) la forme bacille des bactéries lactiques observé au Microscope électronique à transmission	18
05	Figure 05. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «Lactobacillales» au sein de la classe « Bacilli »	20
06	<i>Olea europaea L.</i>	26
07	<i>Thymus vulgaris L</i>	
08	Etapas de fabrication fromage frai (traditionnelle) à partir de lait camelin.	35
09	Etapas d'isolement des bactéries lactiques.	37
10	Thymus vulgaris L (original, 2022)	40
11	Olea europaea L . (original, 2022)	40
12	Protocole expérimental d'extraction	41
13	photo représentative de fromage frais ( Photo originale, 2022)	48
14	Aspect macroscopique des souches isolées ( Photo originale, 2022).	49
15	Observation microscopique après coloration de GRAM en grossissement x100 ( Photo originale, 2022).	50
16	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	55
17	Effet des extraits des plantes sur pH et de l'acidité Dornic de la souche <i>Lactococcus lactis</i> en fonction du temps	58
18	Effet des extraits des plantes sur pH et de l'acidité Dornic de la souche <i>Pediococcus acidilactici</i> en fonction du temps	59
19	Effet des extraits des plantes sur l'activité protéolytique des souches <i>Lactococcus Lactis</i> et <i>Pediococcus acidilactici</i>	61

20	Résultat positif du test de l'activité protéolytique des souches <i>Lactococcus</i> <i>Lactis et Pediococcus acidilactici</i>	62
21	Résultat négatif du test de l'activité lipolytique des souches <i>Lactococcus</i> <i>Lactis et Pediococcus acidilactici</i>	63

## Liste des tableaux

n°	Titre	Page
01	Composition chimique moyenne des laits de camelin	5
02	Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle	6
03	Composition moyenne comparée du lait et des fromages	7
04	Classification de fromages	9
05	Les différents constituants du fromage frais pour 100 gr de produit.	11
06	Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g)	26
07	Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i>	29
08	Caractères morphologiques des bactéries lactiques	49
09	<i>Critères biochimiques et physiologiques des bactéries lactiques</i>	50
10	Tests phytochimiques de la partie aérienne de ( <i>Olea europaea L</i> , <i>Thymus vulgaris L</i> )	52
11	Résultats de rendement ( <i>Olea europaea .L/ Thymus Vulgaris .L</i> )	53
12	Résultats de la teneur totale en phénols (mg EAG/g d'extrait)	55

## Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie Bibliographie

Chapitre I.....	3
Lait de chamelle et le fromage frais.....	3
I.1. Lait camelin.....	4
I.1.1. Définition.....	4
I.1.2. Composition du lait camelin :.....	5
I.1.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait camelin :.....	5
I.2. Fromage.....	6
I.2.1. Définition et composition.....	6
I.2.2. Classification des fromages.....	8
I.2.3. Fromage frais :.....	9
I.2.3.1. Définition :.....	9
I.2.3.2. Principe de fabrication du fromage frais :.....	9
I.2.3.3. Composition des fromages frais.....	10
I.2.3.4. Différents types du fromage frais.....	11
I.2.3.4.1. Les fromages blancs-battus.....	11
I.2.3.4.2 Les fromages type « compagne ou les fromages blancs-moulés » :.....	11
I.2.3.4.3 Le petit suisse :.....	11
I.2.3.4.4 Le demi-sel :.....	12
I.2.4. Fabrication du fromage à partir du lait camelin :.....	12
Chapitre II.....	13

Bactéries lactiques .....	13
Introduction .....	14
II.1. Généralités sur les bactéries lactiques .....	14
II.2 Habitat et origine .....	16
II.3. Caractéristiques classiques (Morphologique et physiologique).....	17
II.3.1. Caractères morphologiques.....	17
II.3.2. Caractères physiologiques et biochimiques .....	17
II.4. Historique et taxonomie.....	18
II.5. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques .....	20
II.5.1. Aptitude acidifiante .....	20
II.5.2. Aptitude protéolytique .....	21
II.5.3. Aptitude lipolytique.....	21
II.5.4. Aptitude aromatisante .....	21
II.5.5. Aptitude texturante.....	22
II.6. Intérêt des bactéries lactiques.....	22
Chapitre III .....	23
<i>Olea europaea L et Thymus vulgaris L</i> .....	23
III.1. <i>Olea europaea L</i> .....	24
III.1.1. Généralité sur l'olivier.....	24
III.1.2. Classification.....	24
III.1.3. Description botanique.....	25
III.1.4. Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100 g).....	25
III.1.5. Utilisations traditionnelles .....	26
III.2. <i>Thymus Vulgaris L</i> .....	27
III.2.1. Généralité.....	27
III.2.2. Classification.....	28
III.2.3. Description botanique de la plante .....	28
III.2.4. Composition chimique.....	28
2.5. Utilisations :.....	29
Partie pratique	
Chapitre I.....	31
Matériel et méthodes.....	31
I.1. Matériel et produits.....	32

I.1.1. Milieu de culture.....	32
1.1.2. Produit chimiques, et appareils .....	32
I.2. Méthodes .....	33
I.2.2. Fabrication du fromage frais .....	33
I.2.3. Isolement et identification des bactéries lactiques.....	35
I.2.3.1. Isolement des bactéries lactiques .....	35
a. Réalisation des dilutions décimales.....	35
b. Isolement et purification.....	35
I.2.3.2. Conservation des isolats .....	37
I.2.3.3. Pré-identification des bactéries lactiques .....	37
I.2.4.1. Etude phytochimique des extraits ( <i>Olea europaea L. et Thymus vulgaris L.</i> ) .....	41
I.2.4.2. Extraction des composants phénoliques.....	42
I.2.4.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées .....	43
a. Pouvoir acidifiant .....	44
b. Activité protéolytique.....	44
c. Activité lipolytique.....	44
Chapitre II.....	46
Résultats et Discussion.....	46
II.1. Fabrication du fromage frais à partir du lait camelin .....	47
II.2 Isolement et pré- identification des bactéries lactiques .....	47
II.2.1. Observation macroscopique .....	47
II.2.2. Observation microscopique.....	48
II.2.3. Tests physiologiques et biochimiques des isolats .....	50
II.3. Etude phytochimique des extraits ( <i>Olea europaea L. et Thymus vulgaris L.</i> ).....	52
II.3.1. Screening chimique .....	52
II.3.2. Le rendement des extraits .....	53
II.3.3. Dosage des polyphénols totaux .....	54
II.4.1. Pouvoir acidifiant .....	55
II.4.2. Pouvoir protéolytique : .....	59
II.4.3. Pouvoir lipolytique .....	61
Conclusion.....	63
Références .....	66

**Error! Bookmark not defined.**

# **Introduction**

## **Introduction**

Le lait de chamelle constitue depuis des temps très lointains, la principale ressource alimentaire pour les peuples nomades qui le consomment habituellement à l'état cru ou fermenté. Il est considéré comme l'aliment de base pour une période annuelle prolongée, dans la plupart des zones pastorales Sahariennes (**JRAD *et al.*, 2016**).

Même s'il présente une composition physico-chimique relativement similaire à celle du lait bovin, ce lait se distingue néanmoins par une teneur élevée en vitamine C, en niacine et par la présence d'un puissant système protecteur contre la flore de contamination, lié à des taux relativement élevés en lysozymes, lactoperoxydases, lactoferrine ainsi qu'en acides organiques et bactériocines produits par les bactéries lactiques intrinsèques de ce lait. (**ELAGAMY *et al.*, 1996 ; DIARRA *et al.*, 2002 ; HADDADIN *et al.*, 2008**).

Le lait de chamelle a la propriété de pouvoir être conservé plus longtemps que le lait de vache lorsqu'il est réfrigéré et même avec la chaleur du désert, il ne s'altère pas très vite (**HASSAN *et al.*, 2008**). Toutefois, si le lait de dromadaire se garde plus longtemps que celui de lait de vache, il a tout de même une durée de conservation limitée. Pour cette raison la transformation en fromage est une technique qui peut être utilisée pour le préserver (**HAMIDI, 2015**).

Les fromages frais sont une famille de fromages caractérisés par une pâte humide acide, peu minéralisée et de faible cohésion ayant un goût acidulé et de l'onctuosité. Ces fromages frais sont obtenus par coagulation, de préférence acide, du lait, puis égouttage du coagulum obtenu. D'une façon très générale, ces fromages n'ont pas subi de phase d'affinage.

Le lait de chamelle est appelé à être développé et amélioré ses aptitudes à la coagulation pour pouvoir être transformé en produits dérivés en diversifiant son état de consommation et en améliorant les conditions de vie des éleveurs. Pour contourner les contraintes liées aux aptitudes limitées à la transformation fromagère (**RAMET, 1993 ; SIBOUKEUR *et al.*, 2005**).

Les bactéries lactiques interviennent essentiellement dans deux étapes de fabrication des fromages, la coagulation et l'affinage (**RAY, 2003**). Les bactéries lactiques qui sont acidifiantes ont une grande importance dans l'économie et présentent une grande utilité du

point de vue technologique ; les lactocoques font partie des bactéries lactiques les plus utilisées comme ferments pour de nombreuses fabrications fromagères(RENAULT, 1996). Selon la technologie mise en œuvre, pour cette production, on distingue plusieurs variétés de fromages dont les fromages frais

Les plantes sont des sources potentielles d'antioxydants naturels qui sont progressivement appliquées dans les produits laitiers pour produire des aliments fonctionnels présentant des propriétés nutritionnelles et thérapeutiques élevées. La consommation de fromage enrichis de ces ingrédients peut être bénéfique à la santé humaine afin de prévenir certaines maladies (CEYLAN et FUNG, 2004). plusieurs essais de production de fromage à base de plantes aromatiques (feuilles, extraits, huiles essentielles) ont été entrepris pour accroître leur fonctionnalité et leur capacité antioxydante (KHORSHIDIAN *et al.*, 2018).

De nombreuses études ont été publiées et axées sur l'utilisation d'extraits de plantes aromatiques pour prolonger la durée de conservation des aliments grâce à leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes (MAHGOUB *et al.*, 2013; BOR *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2016).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, qui consiste à étudier l'effet de supplément en extrait des plantes sur les aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées à partir du fromage frais à base du lait camelin

Ce manuscrit est divisé en deux parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour du lait camelin et le fromage frais dans le premier chapitre . le deuxième chapitre sur les bactéries lactiques , classification et leur aptitudes technologiques, La seconde partie présente le matériel et les méthodes mises en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, les résultats obtenus et leurs discussions sont rassemblés aussi dans cette partie.

# **Partie**

# **Bibliographique**

## **Chapitre I**

### **Lait camelin et leur coagulation**

La dénomination « lait » est réservée exclusivement aux produits de la sécrétion mammaire normale, obtenus par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**J.O.R.A N°69, 1993**). Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de « colostrum ». Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de « colostrum » (**ALAIS, 1975**).

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon (**POUGHEON et GOURSAUD (2001)**) sont :

- ♣ Eau, très majoritaire,
- ♣ Glucides principalement représentés par le lactose,
- ♣ Lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- ♣ Sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- ♣ Protéines ; caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- ♣ Éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

## **I.1. Lait camelin**

### **I.1.1. Définition**

Lait camelin est généralement de couleur blanche opaque et a une légère odeur sucrée et goût prononcé; parfois il peut être salé (**ABBAS *et al.*, 2013**). Sa couleur blanche opaque car les graisses sont finement homogénéisées dans tout le lait alors que les changements de goût sont causés par le type de fourrage et disponibilité de l'eau potable (**KUMAR *et al.*, 2015**). Ses gammes de densité de 1,026 à 1,035 et le pH de 6,2 à 6,5, les deux sont inférieurs à ceux du lait de vache et le pouvoir tampon maximal du lait écrémé est à pH 4,95 (**GUL W *et al.*, 2015**).

### I.1.2. Composition du lait camelin :

Comme tout aliment le lait camelin est riche en nutriments nécessaires pour la croissance et l'entretien des chamelons ou du corps humain.

**Tableau 1 : Composition chimique moyenne des laits de camelin (FARAH et RUEGG, 1989).**

<b>Composé</b>	<b>unité</b>	<b>Lait camelin</b>
Matière sèche	g/100g	12,2
Protéines (c)	g/100g	3,11
Azote total (TN)	6,7mg/100g	418
Azote caséinique (CN)	% de TN	76
Azote non caséinique (NCN)	% de TN	24
Azote non protéique (NPN)	% de TN	6,7
Lactose	g/100g	5,24
Matière grasse	g/100g	3,15
Cendres	g/100g	0,8
Calcium	mg/100ml	157
Magnésium	mg/100ml	8,3
Phosphore	mg/100ml	104
Citrate	mg/100ml	177

### I.1.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait camelin :

Le lait camelin, à l'observation visuelle est de couleur blanche. A la traite et lors des transvasements, il forme une mousse abondante à cause de sa teneur élevée en composant 3- des protéose-peptones(PP3) (SMAIL,2002). L'ingestion de fourrages comme la luzerne, donne un goût sucré, et certaines plantes halophytes le rendent salé (FARAH et BACHMAN, 1987).

Ce lait présente une composition physico-chimique relativement similaire à celle du lait bovin. Il se distingue des autres laits par la présence d'un système protecteur très

puissant, lié à des taux relativement élevés en lysozyme, en lactoperoxydase, en lactoferrine et en bactériocines produites par des bactéries lactiques (SIBOUKEUR, 2012).

**Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle (FAYE, 1997).**

Caractéristiques	Moyenne	Maximum	Minimum
pH	6,56	6,8	6,2
Densité spécifique	1,035	1,038	1,025
Point de congélation	-0,58°C	-0.60°C	-0,55°C
Teneur en eau	87,90 %	90%	84,80%
Extrait sec total	12,10 %	15 ,20%	10,00%
Taux de matière grasse	3,80%	5,60%	2,50%
Extrait sec dégraissé	8,20%	10,30%	6,20%
Teneur azotée totale	3,50%	5,50%	2,20%
Teneur en lactose	3,90%	5,10%	2,60%
Teneur en cl	0,16%	0,17%	0,14%
Teneur en cendres	0,76%	0,90%	0,60%

## I.2. Fromage

### I.2.1. Définition et composition

La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la phase aqueuse (BRULE *et al.*, 2007).

Les fromages sont produits par la coagulation d'un produit laitier assortie d'un égouttage. De la matière grasse d'origine laitière peut être éventuellement ajoutée. La coagulation suivie d'égouttage correspond aux méthodes traditionnelles (LEYRAL, 2003).

Le fromage, selon la norme du codex alimentaires (STAN, 2006) ; est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure obtenu après coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème, crème de lactosérum ou babeurre, seuls ou en combinaison, qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum : caséines ne dépasse pas celui du lait.

On obtient le fromage par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ; on peut aussi faire appel à des techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait de manière à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et sensorielles similaires à celles de la définition précédente (St-GELAIS et TIRARD-COLLET, 2002).

**Tableau 3 : Composition moyenne comparée du lait et des fromages selon ALAIS et LINDEN(1993).**

Composant	Lait	Fromage
<b>Eau</b>	Environ 87%	-Éliminée en partie par la fabrication. Teneur en eau : 50% pour la pâte molle.
<b>Glucides</b>	Lactose 5 % Les ferments lactique transforme le lactose en acide lactique, ce sucre peut être également transformé en alcool.	- Pratiquement éliminé avec l'eau par la fabrication.
<b>Lipides</b>	-Environ 4% Sous forme des globules gras très petit en émulsion dans le liquide	- Ce trouvent dans la majorité des fromages sauf dans les fromages maigres : 23%fromage a pâte molle. 30% fromage a pâte dure.

<p><b>Protéines</b></p>	<p>-environ 3.5%. Les plus importante en qualité sont les caséines : 3% Les protéines de sérum sont aussi non négligeables</p>	<p>- Les caséines coagulant avec la présure, c'est l'élément essentiel de tous les fromages : 18 % fromage à pâte molle.</p>
<p><b>Minéraux</b></p>	<p>-Très intéressante valeur minérale car très riche en calcium et en phosphore. Le calcium étant abondant que le phosphore. - contient aussi potassium et chlorure de sodium.  - pas de fer.</p>	<p>- Grande richesse en calcium et en phosphore. - Plus au moins riche en chlorure de sodium selon leur fabrication.</p>
<p><b>Vitamines</b></p>	<p>- B1 en petite quantité. - B2 assez importante. - C en quantité variable dans le lait, mais pratiquement détruite au contact de l'air durant les manipulations, le transport, la pasteurisation Et l'ébullition. - A en quantité importante dans la matière grasse. - D en quantité variable selon la saison.</p>	<p>- Les fromage a pâte molle sont de bonne source de vitamine B , du fait des synthèses réalisées par les moisissures. - A ce trouve dans le fromage selon la teneur en matières grasses.</p>

**I.2.2. Classification des fromages**

La diversité des modes de fabrication des fromages et la variété des produits obtenus, ont conduit les spécialistes à des classifications usuelles. La classification la plus explicite est celle de (PERNODET, 1984). Les fromages sont classés en fonction de la méthode de caillage (lactique ou présure), du mode d'égouttage et du type d'affinage appliqué.

Tableau 4 : Classification de fromages (FAO/OMS., (1999))

Type	Caractéristique	Exemple
<b>Fromages frais à pâte fraîche</b>	Caillé lactique, égouttage peu poussé, pas d'affinage	Fromage blanc, petits suisses
<b>Fromages à pâte molle</b>	Pas d'égouttage, affinage	Camembert
<b>Fromages à pâte pressée cuite</b>	Caillé mixte / présure, pressage, affinage	Gouda, cheddar
<b>Fromages à pâte pressée non cuite</b>	Caillé présure, chauffage du caillé, pressage, affinage	Tomme, Comté

### I.2.3. Fromage frais :

#### I.2.3.1. Définition :

Un fromage frais a une texture molle granuleuse ou lisse, crémeuse et veloutée. C'est un fromage peu égoutté caractérisé par une teneur très élevée de l'humidité et une teneur de 60 à 80% de la matière grasse (MAJDI, 2009)

#### I.2.3.2. Principe de fabrication du fromage frais :

La transformation de la caséine joue un rôle très important dans l'élaboration des fromages frais. Dans tous les cas, il y a coagulation de la caséine sous réaction d'une flore lactique. L'action de la présure ou sous l'action combinée de la présure et des bactéries lactiques (GUIRAUD, 1998).

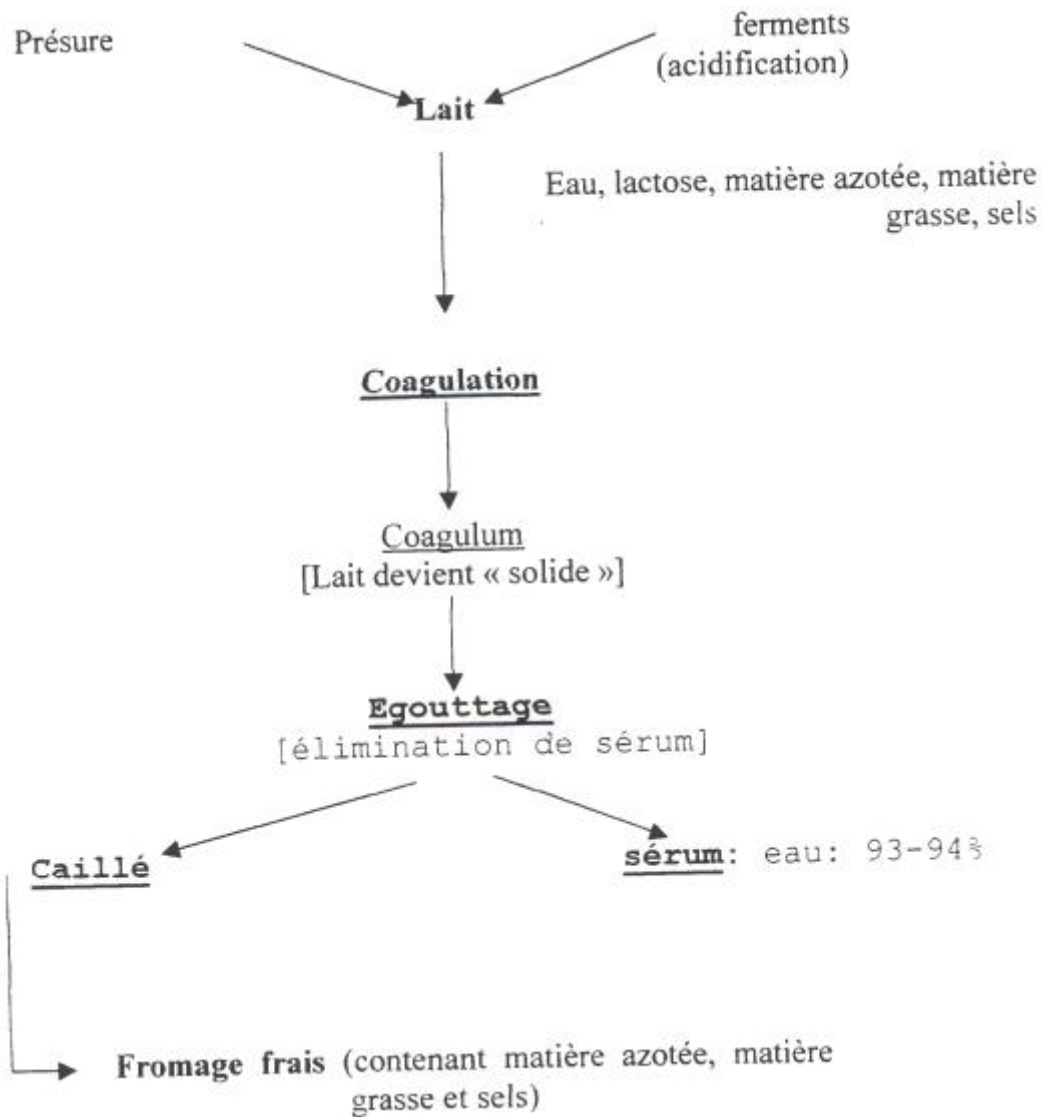


Figure 01 : Schéma Général de la fabrication du fromage frais (ATIE, 1994)

### I.2.3.3. Composition des fromages frais

La valeur énergétique d'un fromage frais est due aux lipides, protides et éventuellement glucides, acide lactique et acide citrique qu'il contient. Ces substances représentent la majeure partie de la matière sèche (MANA et DRIF,2017) .

**Tableau 5** : Les différents constituants du fromage frais pour 100 gr de produit (MANA et DHRIF.,2017)

Eléments	Quantités (gr/100gr)
Eau	79
Glucides	4
Lipides	7.5
Protéines	8.5
Calcium	0.100
Phosphore	0.140
Magnésium	0.010
Potassium	0.130
Sodium	0.040
Zinc	0.0005
Vitamines A	0.00007

#### **I.2.3.4. Différents types du fromage frais**

En fonction de ces diverses opérations, on distingue plusieurs types de fromages frais:

##### **I.2.3.4.1. Les fromages blancs-battus**

D'après (LARPENT, (1997)), ils sont caractérisés par leur texture onctueuse, structure homogène et à extrait sec faible, ces fromages sont non salés, le caillé est enrichi en crème, parfois ils sont aromatisés par des arômes ou par des fruits sucrés.

##### **I.2.3.4.2 Les fromages type « compagne ou les fromages blancs-moulés » :**

D'après (LARPENT, (1997)), ils sont caractérisés par une texture hétérogène morcellaire généralement moulés à la bouche, ils sont très fréquemment égouttés en faisselle où le caillé garde son individualité.

##### **I.2.3.4.3 Le petit suisse :**

C'est un fromage défini de forme cylindrique, lisse à extrait sec plus élevé et texture tartinable. (LARPENT, 1997).

#### I.2.3.4.4 Le demi-sel :

C'est un fromage frais à 2% de NaCl environ, renfermant au moins 40g de matière grasse pour 100g de matière sèche, et à extrait sec total supérieur à 30% généralement consommé au couteau à cause de son extrait sec élevé, et aromatisé (ails, poivre, ... ). (LARPENT et LARPENT, 1985).

#### I.2.4. Fabrication du fromage à partir du lait camelin :

Des études et recherches ont été réalisées sur les possibilités de transformation du lait camelin en produits dérivés et donc sa conservation par divers auteurs (KAMOUN et RAMET, 1989 ; RAMET, 1985, 1994, 2003, SIBOUKEUR et al., 2005 ; SIBOUKEUR,2007, ...etc). En effet le lait de chamelle ne possède pas une aptitude technologique comparable au lait d'autres mammifères plus largement exploités (vache, brebis, chèvre).

Cependant les études récentes permettent d'affirmer qu'à condition de tenir compte de ses particularités de composition physique et chimique, il est possible de transformer ce lait en produits laitiers, notamment en fromages présentant une conservabilité satisfaisante (KAMOUN et RAMET, 1989).

Chez les sociétés pastorales, quelques rares fromages sont fabriqués par des nomades localisés en Ahaggar et dans la péninsule du Sinaï, ce produit est obtenu par chauffage du lait préalablement acidifié (le lait est laissé dans un endroit tranquille 24 à 48 heures à la température ambiante jusqu'à ce qu'il devienne aigre (OMORE *et al.*, 2004) (sous forme de balle ou galette), consommé en l'état ou séchés naturellement au vent et au soleil (RAMET, 1994).

# **Chapitre II**

## **Bactéries lactiques**

## Introduction

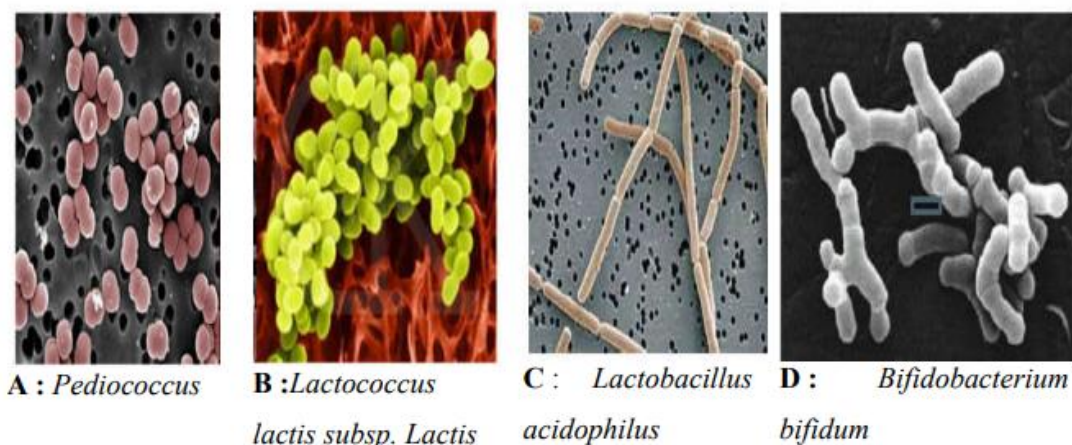
Les bactéries lactiques sont depuis longtemps associées à leurs multiples rôles dans les industries agro-alimentaires. Leur intervention est à la base de la transformation de la matière première et à l'élaboration des produits fermentés. Des traces archéologiques ont été retrouvées en Égypte, indiquant que depuis le néolithique, l'homme maîtrise les procédés de caillage du lait (CAREE-MLOUKA, 2019). Très rapidement l'homme, a su exploiter les bactéries lactiques pour la production d'aliments fermentés lactés tels que les yaourts ou les fromages, mais également des produits à base de légumes, de céréales, de poissons ou de viande, afin de modifier le goût et la texture des produits fermentés, et inhibent les bactéries d'altération des aliments en produisant des substances inhibant leur croissance (KENNETH, 2011). Des progrès importants dans la classification de ces bactéries sont apparus quand les similitudes entre les bactéries du lait acidifié et les autres bactéries productrices d'acide lactique étaient reconnues (AXELSSON, 2004).

### II.1. Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de microorganismes caractérisé par la production de l'acide lactique comme produit final à partir de la fermentation des carbohydrates. Elles sont, généralement, non pathogènes et considérées comme « GRAS » (Generally Recognized As Safe) (MOZZI *et al.*, 2010).

Elles sont des cocci ou des bâtonnets à Gram positif, asporulantes, généralement immobiles, dépourvues de catalase et d'oxydase, aéro anaérobie facultatives et acidotolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C (ZHANG et CAI, 2014). Toutefois, leurs caractéristiques peuvent être changées sous certaines conditions. En présence d'hème, la catalase et les cytochromes sont formés, ce qui réduit la quantité d'acide lactique produite (KÖNIG et FRÖHLICH, 2009).

Elles ont en général une faible capacité de biosynthèse et de nombreuses auxotrophies ont été décrites en ce qui concerne acides aminés, vitamines, bases puriques ou pyrimidiques et cofacteurs (CORRIEU et LUQUET, 2008).



**Figure 02 : Bactéries lactique sous microscope électronique (MAGHNIA, 2011)**

Selon le type de fermentation, les bactéries lactiques sont subdivisées en deux groupes principaux :

#### ❖ Groupes des bactéries homofermentaires

Le produit majeur (85%) de cette fermentation est l'acide lactique (**REDDY *et al.*, 2008; Ross *et al.*, 2002**). Elles fermentent les hexoses principalement le glucose par la voie glycolytique (Figure 2), mais elles ne peuvent pas fermenter les pentoses ou le gluconate. Ce groupe comprend tous les lactobacilles thermophiles trouvés dans les cultures starter, *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii, subsp. bulgaricus* et *subsp. lactis*. Cette classe regroupe aussi les *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* (**HAMMES et HERTEL, 2009**).

#### ❖ Groupes des bactéries hétérofermentaires

Ce groupe exploite la voie (hexose monophosphate ou pentose), ce qui conduit à la production des quantités équimolaires de lactate, CO<sub>2</sub>, d'éthanol ou d'acétate. Les membres de ce groupe incluent *Leuconostoc*, *Weissella* et quelques lactobacilles. (**ROSS *et al.*, 2002; VASILJEVIC et SHAH, 2008**).

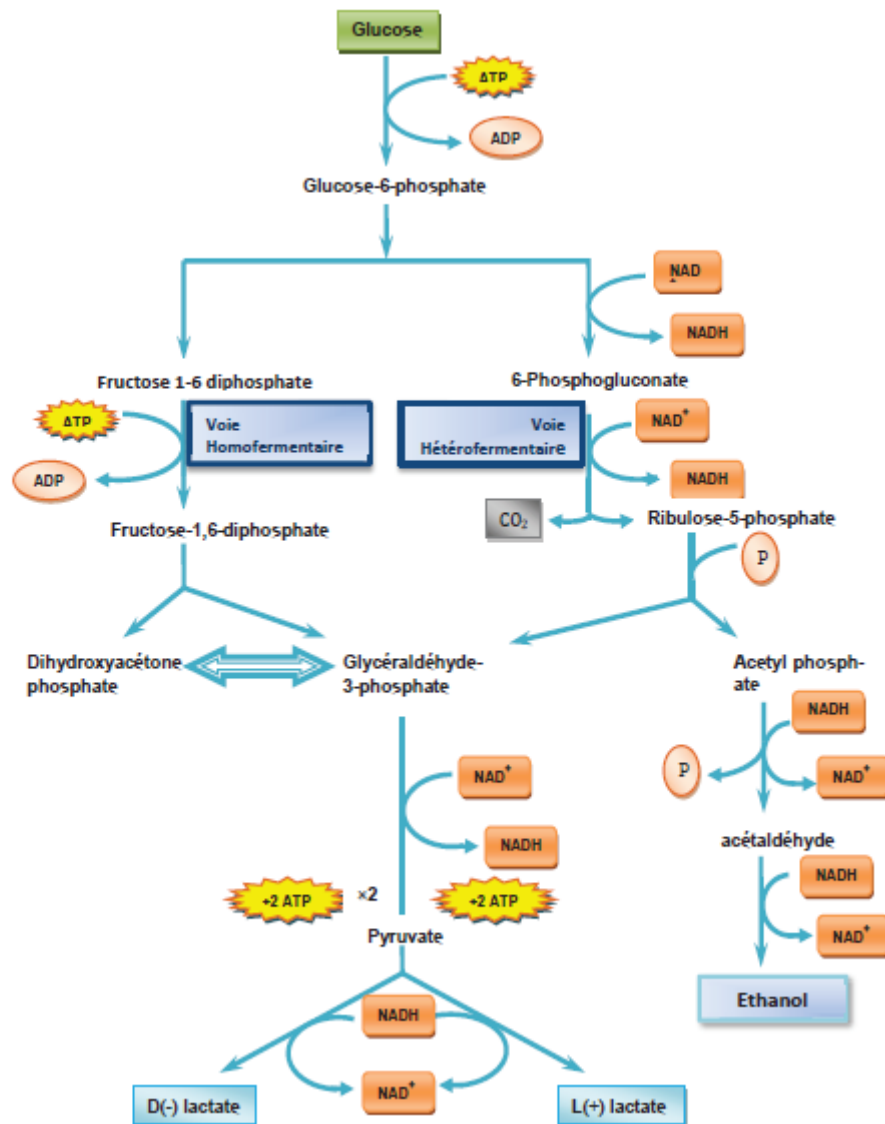


Figure 03 : Les principales voies métaboliques des bactéries lactiques (PERRY *et al.*, 2004).

## II.2 Habitat et origine

Les bactéries lactiques (LAB) sont ubiquistes, elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande et des végétaux (plantes et fruits) (KÖNIG *et al.*, 2009).

Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et on peut les trouver aussi dans les cavités buccales, vaginales et dans les fèces (LEVEAU et BOUIX, 1993).

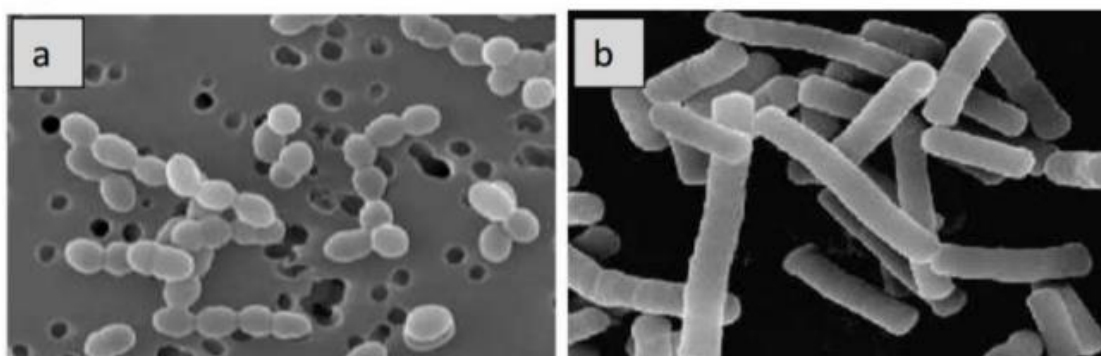
### II.3. Caractéristiques classiques (Morphologique et physiologique)

#### II.3.1. Caractères morphologiques

La première définition de bactéries lactiques (BL), basée sur la capacité des bactéries de fermenter et de coaguler le lait, englobait les bactéries coliformes et lactiques. En 1901, Beijerinck observe que les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, ce qui séparera définitivement les bactéries lactiques (à Gram positif) des bactéries coliformes (MECHAI, 2009).

Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles ou bâtonnets (BADIS *et al.*, 2005 ; KHALISANNI, 2011).

- ✚ Les coques (Cocci) sont des sphères plus au moins ovoïdes de 0,5 à 1,5  $\mu$  m de diamètre dont la division peut engendrer les paires, des tétrades, des tétrades, des chaînettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulées et immobiles.
- ✚ Les bacilles sont des bactéries en forme de bâtonnets qui peuvent avoir différents aspect. A côté de bâtonnets droits classique, on peut trouver des coccobacilles ou de longues chaînes de bacilles. Le bâtonnet peut s'incurver dans certains cas ou s'allonger en filaments. Ils sont de 0,5 à 0,2  $\mu$  m de diamètres et 1,5 à environ 10  $\mu$  m de long (HERMIER *et al.*, 1997).



**Figure 04: (a) la forme cocci, (b) la forme bacille des bactéries lactiques observé au Microscope électronique à transmission (MAKHOULFI, 2011).**

#### II.3.2. Caractères physiologiques et biochimiques

Les bactéries lactiques convertissent le pyruvate en acide lactique pour régénérer le NAD<sup>+</sup> utilisé dans la glycolyse. A quelques exceptions près, elles partagent les caractéristiques suivantes (MECHAI, 2009) : Les bactéries lactiques sont hétérotrophes et

chimio-organotrophes (KLEIN *et al.*, 1998; BADIS, *et al.*, 2005). Pour les bactéries lactiques, la température optimale de croissance est variable selon les genres, comme exemple *Streptococcus thermophilus* qui sont thermophiles.

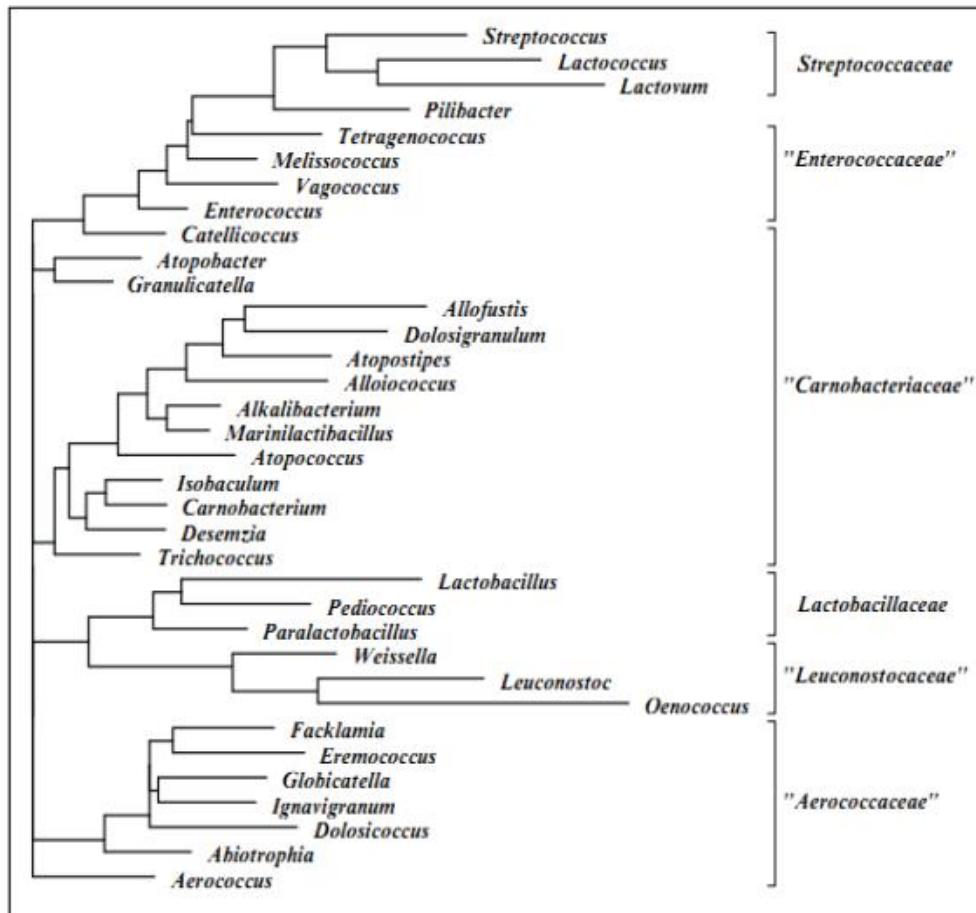
Leur ADN présente un pourcentage de G + C compris entre 30 et 60% (STILES et HOLZAPFEL, 1997) et une taille de génome comprise entre 1,8 et 3,3 Méga paires de bases (Mpb). La plupart des bactéries lactiques sont équipées génétiquement pour avoir un métabolisme respiratoire, mais elles sont incapables de respirer si l'hème, n'est pas présent dans le milieu (LECHARDEUR, 2011). L'hème est un cofacteur indispensable au cytochrome coxydase le dernier accepteur d'électrons de la chaîne respiratoire (KANG, 1989).

#### II.4. Historique et taxonomie

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes découverts dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années, avant l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie (QUIBERONI *et al.*, 2001). Elles sont apparues avant les cyanobactéries photosynthétiques (DRIDER & PREVOST, 2009).

La classification phénotypique des bactéries lactiques est fondée sur la morphologie, la croissance à différentes températures, le mode de fermentation des sucres, la capacité de croissance à différentes concentrations de sel, la tolérance aux pH acides et alcalins, la configuration de l'acide lactique, l'hydrolyse de l'arginine et la formation d'acétoïne. Par ailleurs, une classification selon la composition de la paroi cellulaire (HAMMI, 2016) incluant la nature des acides gras qui la composent, a été proposée (GILAROVA *et al.*, 1994; KÖNIG & FRÖHLICH, 2009).

Selon la seconde édition de **BERGEY'S manual of systematic bacteriology** (VOS *et al.*, 2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des Firmicutes, la Classe des Bacilli et l'Ordre des Lactobacillales renfermant trente-cinq genres répartis en six familles : Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Leuconostocaceae et Streptococcaceae. Seuls douze genres sont utilisés en technologie alimentaire (Figure 5), il s'agit de : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus* et *Weissella* (VANDAMME *et al.*, 1996).



**Figure 05. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «Lactobacillales» au sein de la classe « Bacilli » (DE VOS *et al.*, 2009).**

L'appellation bactérie lactique est aussi souvent étendue aux genres *Bifidobacterium*, *Macroccoccus*, *Brevibacterium* et *Propionibacterium* qui leur sont apparentés et qui sont également utilisés pour la fabrication de divers produits fermentés (KLAENHAMMER *et al.*, 2005; PFEILER & KLAENHAMMER, 2007). Quelques espèces du genre *Streptococcus*, *Enterococcus* et certains *Lactobacillus* sont néanmoins considérées comme des pathogènes opportunistes pouvant provoquer des maladies (AGUIRRE & COLLINS, 1993; KÖNIG & FRÖHLICH, 2009).

#### I-4- Exigences nutritionnelles :

Les B.L ont un besoin pour leur nutrition car elles sont incapables de synthétiser un certain nombre des éléments qui sont variables d'une espèce à une autre, par ce qu'elles ont une faible biosynthèse donc ce sont auxotrophes. Alors elles sont considérées comme un groupe de bactéries le plus exigeant de point de vie nutritionnel (DRIDER *et* PREVOST,

2009). Les bactéries lactiques sont en principes incapables d'effectuer la synthèse des acides aminés, et doivent par conséquent faire appel à des sources exogènes pour assurer leur métabolisme (LUQUET, 1986). Les bases puriques et pyrimidiques ne sont pas vraiment essentielles au métabolisme des bactéries lactiques (DESMAZEAUD, 1983).

Les principaux éléments tel que le magnésium et le manganèse sont généralement requis (CORRIEU *et al.*, 2008) jouent un rôle important dans la nutrition des *Lactobacillus* (MAZALI, 1992), alors que les besoins en calcium et en potassium sont moins systématiques. Les besoins en fer dépendant des micro-organismes (IMBERT et BLANDEAU, 1998). Le zinc présente un effet positif pour la croissance de certains lactobacilles, mais il est toxique à fort concentration. A l'opposé, le sodium, le cadmium, et le cuivre démontrent un effet inhibiteur (CORRIEU *et al.*, 2008).

Le rôle principal des cations dans la nutrition des bactéries lactiques et dans les différentes réactions métaboliques (BOYAVAL *et al.*, 1988)

Les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser les vitamines qui jouent un rôle irremplaçable des coenzymes dans le métabolisme cellulaire. *Streptococcus thermophilus* a une exigence absolue en acide pantothénique (B5), en riboflavine (B2), à moindre degré en thiamine (B1), en nicotinamide ou en acide nicotinique (B3) et en biotine (B8). La pyridoxine ou ses dérivés (B6) stimulent fortement sa croissance (DESMAZEAUD, 1983).

Les bactéries lactiques ont la capacité de fermenter des glucides (BAZO, 2011), par exemple *S. thermophilus* est fermenté et transformé rapidement du lactose en lactate, et utilisé différent source tel que : lactose, saccharose, glucose, galactose, fructose. *S. thermophilus* a été adapté à alimenter et croître sur lactose comme source de carbone (BENYAHIA, 2012).

## II.5. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques

### II.5.1. Aptitude acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (MONNET *et al.*, 2008). Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se présenter par:

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

### II.5.2. Aptitude protéolytique

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés, ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides, Cette activité protéolytique intervient de ce fait dans les caractéristiques du produit final. Technologiquement, l'activité protéolytique constitue un caractère très important qui fait des bactéries lactiques les seuls agents microbiens d'affinage de la majorité des fromages (MAHI, 2010), De nombreuses protéases sont synthétisées par les bactéries lactiques qui peuvent être des aminopeptidases, dipeptidases ou tripeptidases, situées au niveau de la membrane plasmique ou dans le cytoplasme (BENNAMA, 2012).

### II.5.3. Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (BEAL *et al.*, 2008). D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2- C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (SERHAN *et al.*, 2009).

### II.5.4. Aptitude aromatisante

La production de composés aromatiques est liée à l'activité microbienne, plusieurs espèces de bactéries lactiques sont capables de les synthétiser, à partir du citrate notamment,

divers composés tels que le diacétyle, l'acétoïne, l'acétate, principaux composés responsables de l'arôme des produits laitiers fermentés. Le diacétyle est le principal composé qui participe à l'arôme de très nombreux produits laitiers qui sont issus du métabolisme du citrate par différentes espèces de bactéries lactiques. D'autres travaux ont montré la capacité de certaines bactéries lactiques à convertir les acides aminés en molécules aromatiques (HAMMI, 2016 ; BELKHEIR, 2017).

### I.5.5. Aptitude texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par la souche *Lc. lactis ssp. cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (LEROY et DE VUYST, 2004 ; HO *et al.*, 2007).

### II.6. Intérêt des bactéries lactiques

L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle donnée est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : activité acidifiante, propriétés enzymatiques (activité protéolytique, peptidasique et lypolytique), production de métabolites d'intérêt telle que la peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines (BELYAGOUBI, 2014).

D'autres qualités ont depuis été associées aux bactéries lactiques lorsqu'elles sont associées aux produits alimentaires comme l'augmentation des valeurs nutritionnels des aliments, la réduction de la formation de produits toxiques et la propriété de probiotique. En plus de la propriété de bioconservation, plusieurs propriétés ont été attribuées aux bactéries productrices de bactériocines telles que la diminution des gaz dus à la fermentation ainsi qu'à l'amélioration du goût et de la qualité du produit fini (MAKHLOUFI, 2011).

# Chapitre III

*Olea europaea L et Thymus vulgaris L*

### III.1. *Olea europaea L.*

#### III.1.1. Généralité sur l'olivier

L'olivier (*Olea europaea L.*) est parmi les plus vieux arbres cultivés dans le monde, sa culture remonte à la plus haute antiquité ; c'est l'un des arbres les plus caractéristiques de la région méditerranéenne; il a une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique sur les populations de cette région (**LIPHSCHITZ *et al.*,1991**). Elle est la seule espèce de ce genre *Olea* utilisée pour l'alimentation (**BIANCO ET RAMUNNO 2006 ; HASHMI *et al.*, 2015**) .

L'olivier possède un tronc court, gros et tordu et parfois tortueux, et une tête large pourvue de branches hautes de 4 ou 5 mètres. Ses feuilles sont opposées, persistantes et coriaces entières et d'une forme elliptique très étroite et pointue. Elles sont vertes et brillantes par la gerbe. Les fleurs sont blanches, elles sont hermaphrodites et très petites et elles se présentent comme des grappes axillaires (**MOUSSOUNI, 2016**).

#### III.1.2. Classification

La classification botanique de l'olivier selon **NEFZAOUI (2018)** est la suivante :

**Embranchement** : Spermaphytes

**Sous embranchement** : Angiospermes

**Classe** : Dicotylédones

**Sous classe** : Gamopétales

**Ordre** : Ligustrales

**Famille** : Oleacées

**Genre** : *Olea*

**Espèce** : *Olea europaea L.*



Figure 06: *Olea europaea L.* ( ZOTOUNI *et al*, 2012)

### III.1.3. Description botanique

L'olivier est une espèce vivace à feuillage persistant dont la croissance est rythmée dans les régions tempérées, il se distinguant par sa pérennité et sa grande longévité. Aussi, il est réputé pour sa grande rusticité et sa plasticité lui permettant de se développer dans différentes conditions environnementales. Il n'est pas rare de voir de vieux oliviers dépasser 15 à 20 mètres de hauteur, avec un tronc de 1,5 à 2 mètres de diamètre (ABDELSAMED ,2017).

Les feuilles de l'olivier sont persistantes, avec une durée de vie moyenne de trois ans. Ils sont simples, lancéolés et pointus. Sur les brindilles, ils se font face et le cou est court. Les feuilles sont taillées avec des bords rotatifs. La face supérieure est vert foncé brillant, tandis que la face inférieure à un aspect argenté en raison de la purine. Les surfaces des feuilles exposées au soleil sont protégées par un teint vert foncé à texture vitreuse hydrofuge. Le dessous est lisse et contrôle l'écoulement de l'eau à travers un cheveu qui le recouvre comme un parapluie. En moyenne, les feuilles d'un olivier mesurent 2 à 8 cm de long, 0,5 à 1,5 cm de large Les stomates sont presque couchés sur la face inférieure, situ en tricolore ; Ils protègent les feuilles de la perte d'eau et des rayons UV, et multiplient par trois l'efficacité de la surface des feuilles (FERNANDEZ *et al.*, 2012 ).

### III.1.4. Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100 g)

La composition chimique des feuilles de l'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : La variété, conditions climatiques, l'âge des plantations ainsi que l'époque de

récolte (NEFZAOU,1995). Les différents composés chimiques sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 06 : Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g)**

Composition	Boudhrioua et al., 2009	Erbay et Icier, 2009	Martin-Garcia et al., 2006	Garcia-Gomez et al., 2003	Fegeros et al., 1995
Eau	46,2-49,7 a	49,8 a	41,4 a	Nd	44,0 a
Protéines	5,0-7,6 a	5,4 a	7,0 b	Nd	Nd
Lipides	1,0-1,3 a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	Nd
Minéraux	2,8-4,4 a	3,6 a	16,2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	Nd	Nd	Nd
Fibres brutes	Nd	7,0 a	Nd	Nd	18,0 b
Cellulose	Nd	Nd	Nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	Nd	Nd	Nd	25,4 b	13,3 b
Lignin	Nd	Nd	Nd	30,4 b	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b	Nd	2,5 b	Nd	Nd
Tannins solubles	Nd	Nd	Nd	Nd	0,3 b
Tannins condensés	Nd	Nd	0,8 b	Nd	1,0 b

*a* : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

*b* : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

*Nd* : valeur non déterminée

### III.1.5. Utilisations traditionnelles

L'olivier est l'un des plus vieux arbres connus au monde à travers les âges, et il a été utilisé en phytothérapie car il a des capacités de guérison exceptionnelles. Au cours des siècles où l'homme a cultivé l'olivier, il a découvert de multiples pouvoirs de guérison et de préventions contre certaines maladies. Toutes les parties de l'arbre sont utilisées pour la guérison : Fruits, feuilles, fleurs, écorces et huile d'olive. Les nombreux bienfaits pour la santé de la feuille d'olivier sont connus depuis l'Antiquité. Des études indiquent que boire du thé aux feuilles d'olivier est une méthode utilisée depuis des siècles par les cultures du Moyen-Orient pour traiter des affections telles que la toux, les maux de gorge, la cystite et la fièvre. De plus, les feuilles d'olivier ont été utilisées dans des compresses pour traiter les brûlures, les éruptions cutanées, les verrues et autres problèmes de peau. Ce matériel végétal pour le traitement de la fièvre (LEE *et al.*, 2009).

Ils ont été utilisés dans l'alimentation humaine sous forme d'extrait, de poudre et de tisane. Les feuilles d'olivier sont utilisées pour un usage externe et est à croquer, car il est connu pour soulager les douleurs dentaires et traiter les lèvres gercées. Sous forme de décoction et de bain de bouche, il est utilisé pour traiter la stomatite, la gingivite et la glossite (maladies inflammatoires et / ou infectieuses de la langue) (KARAKAYA, 2009).

Ces dernières années, la demande d'extrait de feuilles d'olivier a augmenté pour être utilisée dans les aliments, les additifs alimentaires et les aliments fonctionnels (Özcan et MATTHÄUS, 2017). Plusieurs chercheurs ont étudié l'activité antimicrobienne in vitro de l'extrait de feuille d'olivier (EFO) contre un large spectre des bactéries, y compris les bactéries lactiques, après détermination des composés phénoliques des différents extraits de feuilles pour explorer la relation entre l'activité antibactérienne et les composants des feuilles d'olivier, et son efficacité de produire des nouveaux produits acceptables par le consommateur avec une augmentation de la durée de conservation des aliments tels que les produits laitiers (ÖZCAN et MATTHÄUS, 2017; PALMERI et al., 2019).

## III.2. *Thymus Vulgaris L.*

### III.2.1. Généralité

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen. Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris L.* localement connu zaatar . En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre (thym et thyme respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (MORALES, 2002).

Le nom "*Thymus*" provient du mot grec « thymon » qui signifie "parfum" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement ou lorsqu'on la fait brûler (ZEGHIB, 2013). L'espèce la plus connue parmi les Lamiaceae est sans conteste *Thymus vulgaris L.* (AMIOT, 2005), nommé ainsi par Carl Von Linné en 1753 et reste le nom utilisé par toutes les nomenclatures scientifiques. Elle renferme des qualités aromatiques et de nombreuses propriétés médicinales (TAMERT et al., 2017).

*Thymus vulgaris L.* est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade

méditerranéenne (AMIOT, 2005). Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (KITAJIMA *et al.*, 2004).

### III.2.2. Classification

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Embranchement :** Magnoliophyta

**Sous-embranchement :** Magnoliophytina

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Asteridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiaceae

**Genre :** Thymus



**Espèce :** *Thymus vulgaris L.*

**Figure 07 :** *Thymus vulgaris L.*( Tifourghi *et al* ,2020)

*Selon (Directorate Agricultural Information Services 2009)*

### III.2.3. Description botanique de la plante

*Thymus vulgaris L.* est un arbuste aromatique à tiges ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncés, et qui sont recouvertes des poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique ( MORALES, 2002)

### III.2.4. Composition chimique

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intraspécifique,

qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique (BALLADIN et HEADLEY, 1999 ; AMIOT, 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré. Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuses préparée du *thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (KULIŠIĆ *et al.*, 2006).

**Tableau 07: Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* (KULIŠIĆ *et al.*, 2006).**

Plante	Phénols totaux	Flavonoïdes	Non- flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25.0	8.3	1.2	6.7

## 2.5. Utilisations :

*Thymus vulgaris* est l'un des plus populaire plantes aromatique utilisé dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (ADWAN *et al.*, 2009). Le thym est consommé en tisane, condiment ou épice (STAHL-BISKUP et SÀEZ, 2002).

En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussive, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, anthelminthique, diaphorétique et diurétique (JOHNSON, 1998). En usage interne, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires (POLESE, 2006).

En usage externe, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs (NAMSA *et al.*, 2009). Elles peuvent s'employer en gargarismes, inhalations, bains de bouche et comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine soulageant de ce fait, la dépression nerveuse (ÖZCAN ET CHALCHAT, 2004).

Le thym (*Thymus vulgaris*) est une plantes aromatiques communément utilisée dans les produits laitiers pour améliorer leurs propriétés sensorielles et prolonger leur durée de conservation en raison de leur activité antimicrobienne et antioxydante (**ORAON ET AL., 2017; KAPTAN ET SIVRI, 2018**). Les investigations sur leurs composés bioactifs et leurs effets thérapeutiques ont été bien documentées (**NIETO ET AL., 2018**).

# **Partie pratique**

## **Chapitre I**




### **Matériel et méthodes**

Notre étude est basée d'une part : sur la préparation traditionnelle d'un fromage frais à partir de lait camelin (sans présure) , d'autre part sur l'étude de l'influence de l'extrait d'une plante sur l'amélioration des aptitudes technologiques des bactéries lactiques.

Les protocoles expérimentales ont été réalisés au sein du Laboratoire de microbiologie, Biochimie Université El-chahid Hamma Lakhdar, El-oued , durant la période allant du mois de Janvier au mois avril 2022.

## I.1. Matériel et produits

### I.1.1. Milieu de culture

-  Gélose M17
-  Bouillon nutritive
-  Gélose nutritive

### I.1.2. Produit chimiques, et appareils

#### a. Produits chimiques et réactifs

Eau physiologique	Acide hydrochlorique ( HCl )
Eau oxygénée (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Acide sulfurique ( H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
Eau distillé	Hydroxyde de sodium ( NaOH )
Ethanol	L'hydroxyde d'ammonium (NH <sub>4</sub> OH 10% )
BCPL (S/C , D/C)	Chips de magnésium (Mg )
Galerie api 10s (bioMérieux )	Liqueur Fehling
Phosphate salin	Folin-Ciocalteu
Tween 80	acide gallique (C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> )
Violet de gentiane	Réactif de Mayer
Lugol	Réactif de Dragendorff
Fushine	Chloroforme (CHCl <sub>3</sub> )
huile de paraffine	Réactif de Wanger; phénolphtaléine

**b. Appareils utilisés**

Autoclave	Micropipette
Etuve bactériologique	Lyophilisateur
Bain marie	Centrifugeuse
Microscope optique	Spectrophotomètre
Plaque chauffante agitant	Centrifugeuse
Microscope électronique	Etuve
Pipette	bec benzène
Réfrigérateur	haut
Boîte pétri	pH- mètre
Verreries de laboratoire	balance électronique

**I.2. Méthodes****I.2.1. Echantillonnage du lait camelin**

Les échantillons du lait de chamelle de la population « TARGUI » proviennent des fermes d'élevage, se situant dans la région de Oued El Alenda , wilaya D'El-oued . La collecte du lait cru a été réalisée selon les règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie, c'est-à-dire après lavage et rinçage des pis des chammelles à l'eau javellisée suivie d'une élimination des premiers jets de laits, sans oublier une bonne hygiène des mains de l'éleveur. C'est à partir de ce moment que le lait cru a été recueilli dans des flacons de 250 ml stériles étiquetés, immédiatement conservés à 4°C et acheminés au laboratoire dans une glacière pour être analysé à l'arrivée.

**I.2.2. Fabrication du fromage frais a partir de lait camelin**

Nous avons utilisé 1,5 litre de lait de chamelle. En premier temps, nous avons filtré et faire bouillir le lait et le laissé refroidir pendant dix minutes. Le four a été chauffé à haute température pendant 10 minutes avant de l'éteindre . Le lait , verser dans un pot en argile et couvert d'aluminium , puis au four pendant 48 heures. Après deux jours, nous avons remarqué une séparation nette et une coagulation. Le lactosérum a été vidé dans un autre récipient pour d'autres usages en raison de son importance. A l'aide d'un tissu , nous avons

procédé a l'égouttage et laissé au réfrigérateur pendant une journée. Enfin on a obtenu du fromage frais



Figure 08 : Etapes de fabrication fromage frai (traditionnelle) à partir de lait camelin (original ,2022).

### I.2.3. Isolement et identification des bactéries lactiques

#### I.2.3.1. Isolement des bactéries lactiques

##### a. Réalisation des dilutions décimales

Peser 1 g de fromage frais de manière aseptique et le déposer dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique. Bien l'homogénéiser avec un agitateur vortex jusqu'à l'obtention d'une solution homogène, et on obtient la dilution dite la  $10^{-1}$ . Pour réaliser la dilution  $10^{-2}$ , on prend 1 ml de la suspension précédente  $10^{-1}$  et le mettre dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique. Continuer l'opération jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-6}$ . **(HABHOUB et IZEGHOUF , 2021)**

##### b. Isolement et purification

Par stries réalisé sur gélose M17 préalablement coulées et solidifiées dans des boîtes de Pétri après dénombrement, l'isolement s'effectue en prélevant des colonies bien isolées et apparaissant morphologiquement différentes. Ces colonies sont choisies après test de catalase et coloration de Gram (catalase<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup> pour les bactéries lactiques) et repiquées sur les milieux d'isolement. L'incubation est réalisée à 30°C et 37°C pendant 24 à 48 h (en conditions d'anaérobiose pour les lactobacilles). L'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'une culture pure dont la pureté est estimée par observation microscopique après coloration de Gram **(HELENI *et al*, 2006)**.

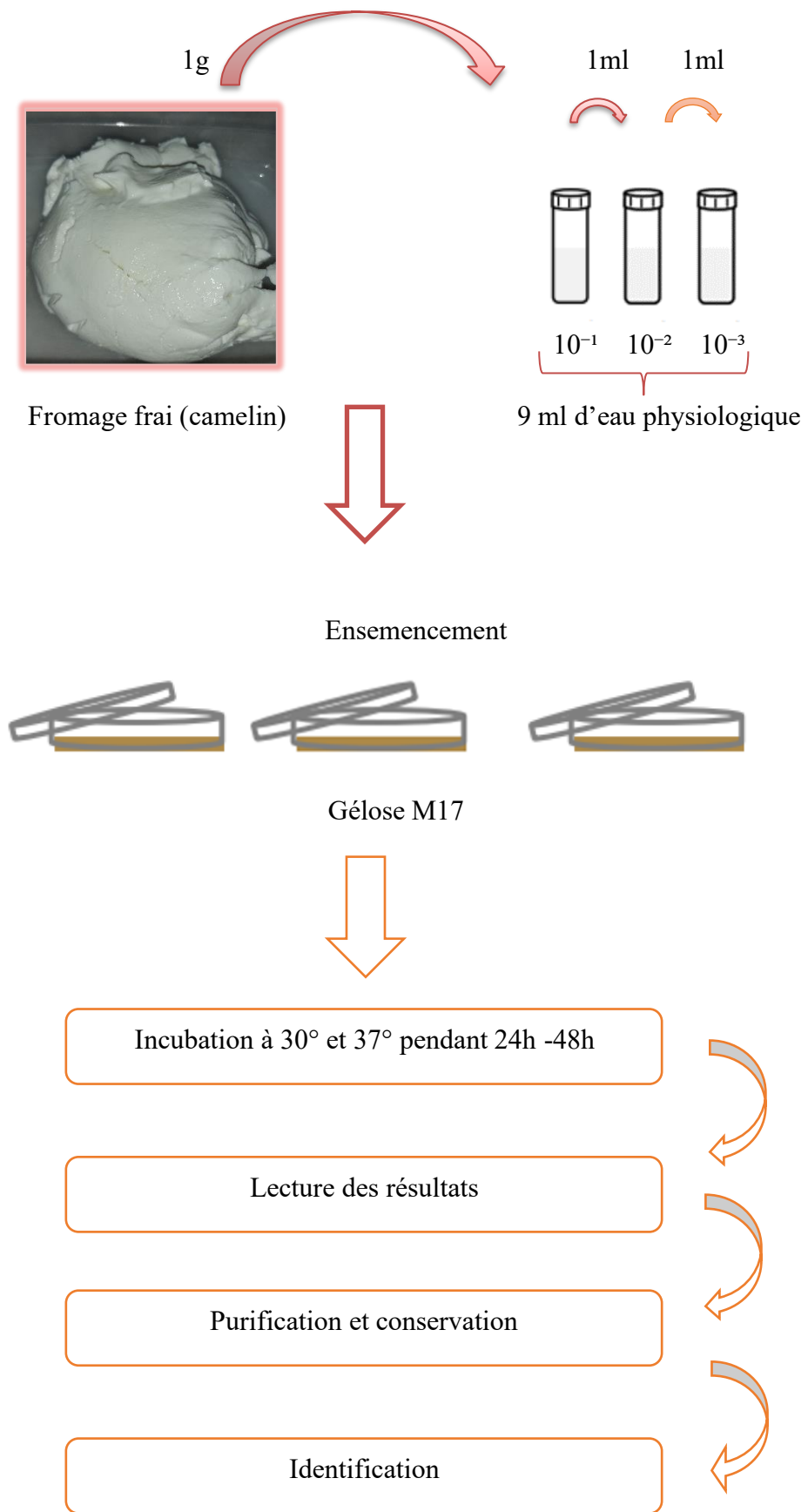


Figure 09 : Etapes d'isolement des bactéries lactiques.

### I.2.3.2. Conservation des isolats

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu M17. Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C. (BADIS *et al.*, 2005 ;BRAHIMI, 2015).

### I.2.3.3. Pré-identification des bactéries lactiques

La pré-identification des souches purifiées est établie pour les bactéries lactiques en se basant sur des caractères morphologiques et biochimiques (forme, coloration de Gram, catalase, croissance à différentes température, sensibilité au NaCl (LAIRINI *et al.*, 2011).

**a. Critère morphologique** Cette étude est basée sur l'observation macroscopique et microscopique

- ✚ **Examen macroscopique** : Il consiste à étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface, la couleur des colonies sur les milieux M17 Après l'incubation pendant 2 jours à 30°C.
- ✚ **Etude microscopique**: Cet examen repose sur une observation au microscope (grossissement X100) optique après coloration de Gram.
- ✚ **Coloration de Gram** : Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatifs (G-) et les bactéries Gram positives (G+). (LARPENT, 1990).

**b. Critères physiologiques et biochimiques**

- **Test de catalase** : Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte est diluée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase (BRAHIMI, 2015)
- **Effet de NaCl et pH** : L'habilité à croître sur milieu M17 et en présence de NaCl à différentes concentrations et à différentes valeurs de pH a été observé pendant 2 à 3 jours d'incubation. Les isolats des genres ont été testés comme suit : *Streptococcus*, et *Lactobacillus* à 2% et 4% de NaCl et pH 4.5 et 6.5, *Pediococcus* à 2%, 3%, 4% et 6.5% de NaCl et pH 4.2, 4.8, 7.0 et 8.0. (BADIS *et al.*, 2005 ; SENBAGAM *et al.*, 2013).

- **Température de croissance :** Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries thermophiles. Après inoculation en milieux liquides (bouillon MRS et M17) avec une culture pure d'organismes à tester, les tubes sont incubés 07 à 10 jours à 10°C et à 15°C et 24 à 48 h à 45°C. Au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux : présence de trouble. **BOULLOUF, 2016).**
- **Fermentation du lactose :** Nous avons préparé et le milieu M17 par l'addition d'un indicateur de coloration : Bromo-crésol-pourpre lactose (BCPL) en solution stérile au bouillon MRS et le bouillon M17. Ces milieux sont utilisés comme milieux de culture de base pour la réalisation du test de fermentation du lactose. En parallèle, nous avons des pré- cultures de 18 h des souches lactiques dans des tubes de bouillon MRS ou M17 approprié. Ces tubes sont centrifugés à 8 000 tours / min pendant 15 min. Après, nous avons récupéré le culot en ajoutant 2ml de M17 BCPL et en le recouvrant par l'huile de paraffine, puis l'incubation à 37°C pendant 24 heures. Résultat positif se traduit par la formation d'acide qui se manifeste par le virage de couleur de violet vers le jaune (**TABAK & BENSOLTANE, 2011).**
- **Galerie Api 10S :** API 10S est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 11 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice (**BIOMERIEUX, 2006).**

La galerie API 10 S comporte 10 micro tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel d'identification (**BIOMERIEUX, 2006).**

### **3.4. Extraction et études de l'effet d'extraits végétaux sur les aptitudes technologiques de bactéries lactiques**

Les feuilles (sèches) des deux espèces de plantes (*Thymus vulgaris L. et Olea europaea L.*) ont été collectées aléatoirement en mois de Février 2022 de la région Guemar et Ourmas , relevant de la wilaya d'el oued . L'identification botanique des deux espèces a

été réalisée par **Dr HILLIS Yousef**; Enseignant-chercheur au Centre de recherche sur les zones arides et semi-arides (CRSTRA) à Touggourt.

Les feuilles ont été nettoyées, lavées avec de l'eau du robinet et séchées pendant 2/3 semaines à l'ombre. Elles ont été ensuite pesées, broyées grossièrement et récupérées dans des sacs propres.



Figure 10 : *Thymus vulgaris L.* (original, 2022)

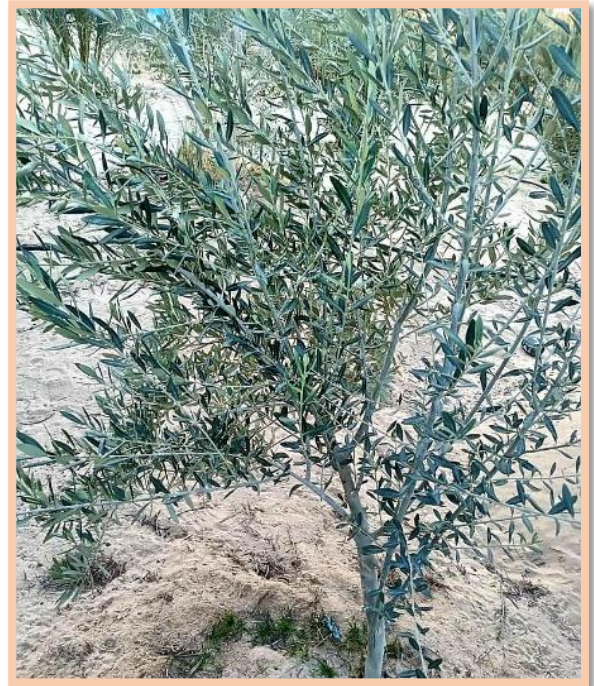
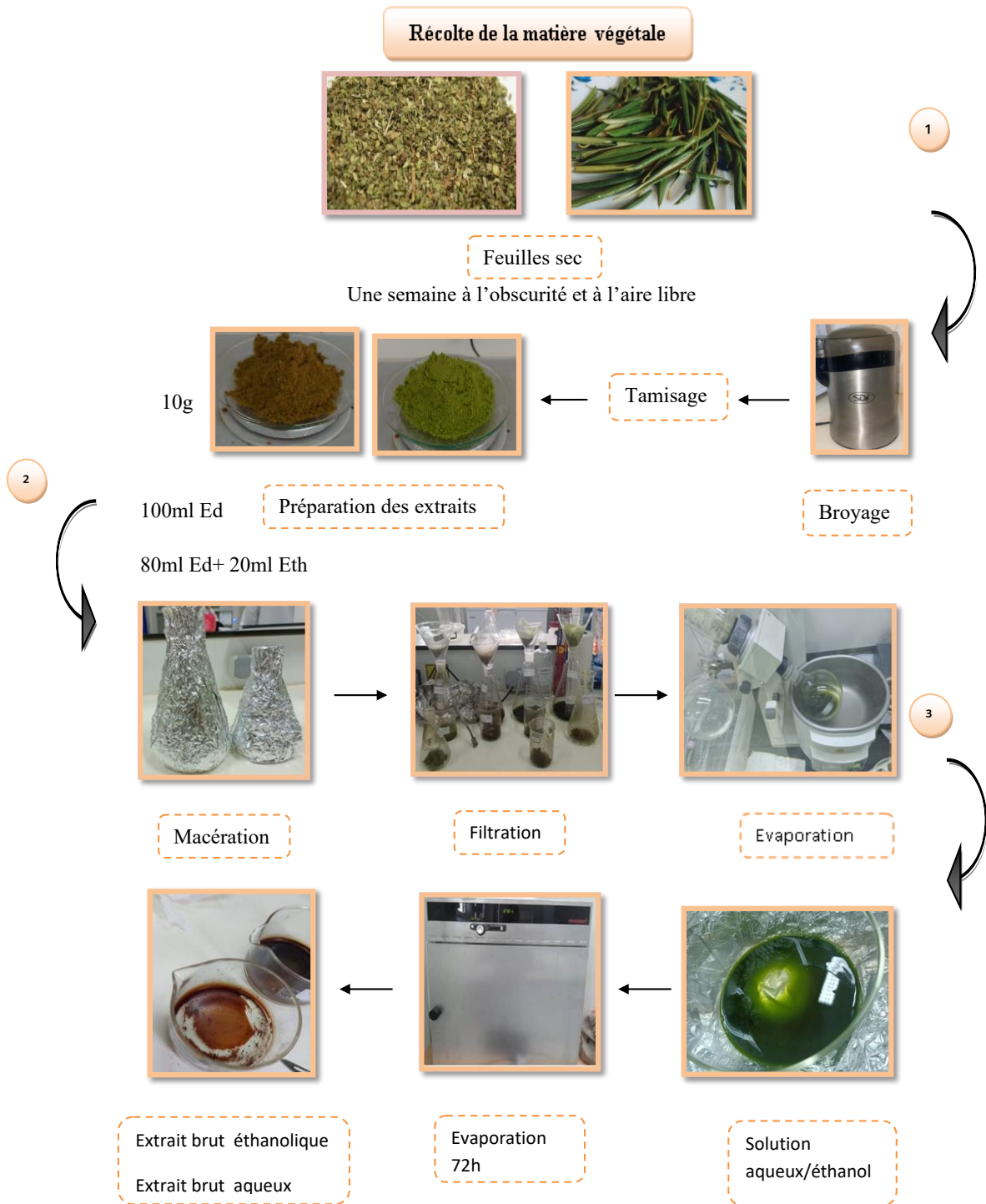


Figure 11 : *Olea europaea L.* (original, 2022)



**Figure 12:** Protocole expérimental d'extraction

### I.2.4.1. Etude phytochimique des extraits (*Olea europaea L. et Thymus vulgaris L.*)

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette (HAGERMAN *et al.*, 2000).

#### a. Polyphénols

La réaction avec le trichlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) a permis de caractériser les polyphénols. A 2 ml de l'extrait aqueux, nous avons ajouté une goutte de solution alcoolique de trichlorure de fer à 2 %. L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée était le signe de la présence de polyphénols (N'GUESSAN *et al.*, 2009).

#### b. Flavonoïdes

La présence des flavonoïdes est mise en évidence par un test simple et rapide appelé « réaction de Shinoda » (SOULAMA *et al.*, 2014). A 5 ml d'extrait aqueux ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (4 ml et OH et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré), environ 0,5 g de copeaux de magnésium, un aspect rosé, orangé ou violet se produit en présence de flavonols, flavones, flavonones) (TELILI, 2015).

#### c. Alcaloïdes

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : on ajoute 5 ml d'HCl 1% à 1ml de chaque extrait, le tout est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (MAJOB *et al.*, 2003).

#### d. Terpénoïdes (Test de SLAKOWSKI)

5 ml de l'extrait sont ajoutés à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Le test positif est indiqué par l'apparition de deux phases et un anneau marron-rouge (KHAN *et al.*, 2011 ; TLILI, 2015).

**e. Saponines**

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser reposer le mélange pendant 15 minutes. L'apparition de mousse persistante indique la présence de saponosides (FETTAH, 2019).

**f. Quinones libres**

Quelques gouttes d'hydroxyde de sodium (1% NaOH) sont ajoutées à 5 ml d'extrait. Une coloration jaune, rouge ou violette indique la présence de quinones libres (TLILI, 2015).

**g. Anthraquinones**

Un volume de 5 ml d'Ammonium hydroxyde 10% (NH<sub>4</sub>OH) est mélangé avec 10 ml d'extrait en maintenant l'agitation. La couleur violette indique la présence d'anthraquinones (TLILI, 2015).

**h. Glycosides cardiaques**

Deux ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> indique la présence des glycosides cardiaques (EL-HAOUH *et al.*, 2018).

**i. Sucres réducteurs**

1 ml de liqueur de Fehling est ajouté à 5 ml d'extrait et les tubes contenant les mélanges sont chauffés au bain-marie à 40°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique (FETTAH, 2019).

**I.2.4.2. Extraction des composants phénoliques**

Dans notre étude les composés phénoliques et flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles (*Thymus Vulgaris .L / Olea Europaea.L* ) par macération.

**a. Macération (aqueux – hydroalcoolique )**

L'extraction des composés phénoliques a été réalisée selon la méthode décrite par SULTANA *et al* (2009). Les échantillons de la poudre séchée des feuilles (*thymus vulgaris L. – olea europaea L.*) (10g) ont été mélangés avec une solution aux solvants aqueux (eau

distillé, éthanol ou méthanol) (100 ml) (solvant : eau, 80 :20 v / v) pendant 24h à température ambiante.

Les extraits aux solvants aqueux de la plante ont été séparés des composants solides par filtration sur papier filtre Whatman grade 1, puis concentré et débarrassé des solvants sous vide en utilisant un évaporateur rotatif. Les procédures d'extraction ont été répétées trois fois. Les extraits bruts ont été séchés, conditionnés et conservés au froid (- 4°C) jusqu'à leurs utilisations ultérieures ( **KHELIFI, 2022**).

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par **FALLEH et al (2008)**:

$$R (\%) = 100 \text{ Mext/Méch}$$

Où : **R** est le rendement en %; **Mext** est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg et **Méch** est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

Les phénols totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu avec spectrophotométrie UV-visible. Le protocole du dosage des phénols totaux consiste à mélanger 0,5 ml d'échantillon avec 2,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois). Après 8 min à T° ambiante, 2 ml d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g L<sup>-1</sup>) est ajouté. Le mélange est incubé pendant 2h. Après refroidissement, une lecture de la densité optique à 760 nm est effectuée (**SKERGET et al., 2005**).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à des concentrations de 0 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg /ml. (**DEWANTO et al., 2002**).

#### **I.2.4.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées**

Après la sélection des certaines souches, on a testé le pouvoir acidifiant protéolytique, lipolytique des souches de bactéries lactiques confirmées, en présence ( extrait aqueux- hydroalcoolique) pour les deux espèces ( *thymus vulgaris*L. / *olea europaea* L). On a choisi les concentrations suivantes ( 10, 20 mg) pour chaque extrait ( aqueux - hydro alcoolique ) dilué dans 1 ml d'eau distillé, stériliser dans l'autoclave avant l'utilisé.

### a. Pouvoir acidifiant

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude.

On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 250mL. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (V/100V) + 1ml extrait( aqueux– alcoolique 10, 20mg ).

Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 0 h, 3 h et 24 h; 10 mL du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (LARPENT, 1997). L'acidité est déterminée par la formule : **Acidité (°D) = V NaOH x 10**

Où :

**V NaOH:** Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 mL de lait. La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique.

### b. Activité protéolytique

Cette propriété est importante pour la fabrication du produit laitier surtout pour la fabrication de fromage et notamment la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques de produit final.

Ce test est réalisé sur milieu Plate Count Agar (PCA) additionnée de lait écrémé à 10% + 1ml extrait ( aqueux– alcoolique 10, 20 mg ). On ensemence 5µl d'une culture jeune de chaque souche en touche à la surface du milieu solide et à des distances égales les unes des autres. On laisse les souches sécher et on incube les boites à 30°C pendant 24h à 48h (THAPA *et al.*, 2006).

L'effet protéolytique est traduit par l'apparition des halos clairs autour des colonies bactériennes. Les halos les plus larges indiquent que les souches ont une activité protéolytique plus importante.

### c. Activité lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur gélose additionné de 1% de Tween 80 (source lipidique artificielle) +1ml extrait ( aqueux- alcoolique 10, 20 mg ). Cette dernière a été coulée et solidifiée. les souches à tester sontensemencée simultanément en touche à la surface du milieu de culture à l'aide d'une anse. Après une incubation à 30 °C pendant 48 heures, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des touches **(GUIRAUD,2003)**.

# Chapitre II

## Résultats et Discussion

### II.1. Fabrication du fromage frais à partir du lait camelin

Dans la présente étude, nous avons fabriqué le fromage frais à partir de lait camelin ; la figure 13 représente son aspect. Notre fromage frais obtenu a une texture homogène comme le fromage à tartiner, n'a pas d'odeur et se caractérise par un goût peu amer, selon (LUQUET, 1990) les fromages frais à structure homogène a extrait sec plus élevé et texture tartinable comme les petits suisses. Ils peuvent être additionnés de sucre, de sel, de fruits, d'épices ou herbes.



Figure 13 : photo représentative de fromage frais ( Photo originale, 2022)

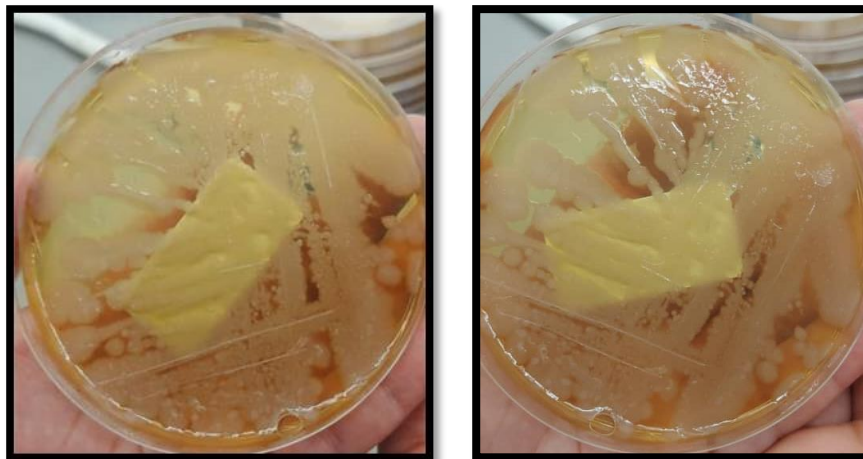
### II.2 Isolement et pré- identification des bactéries lactiques

Les souches, cultivées sur milieu M17 à 37°C d'incubation, retenues dans notre travail, sont signifiées par (S1,S2,S3 ,S4).

#### II.2.1. Observation macroscopique

La caractérisation macroscopique, permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieu M17 à pH 7,2 après 24h d'incubation à 37°C et de déterminer les critères relatifs aux colonies des bactéries lactiques (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité) (ANABEIEN FLOZER *et al.*, 2006).

Un total de 4 isolats ont été retenues et purifiées sur milieu gélose M17 , les isolats sont apparus de petite taille, de forme circulaire ou à contour régulier et de couleur blanchâtre ou grisâtres crème (figure 14, Tableau 08).



**Figure 14 : Aspect macroscopique des souches isolées ( Photo originale, 2022).**

Ce qui est conforme aux résultats trouvés par ( **MEBREK ,2019**) sur les bactéries isolées du lait de chamelle l'examen macroscopique des colonies obtenues sur gélose MRS ou M17 a révélé qu'elles sont de petite taille, de forme circulaire ou, à contour régulier et de couleur blanchâtre.

### **II.2.2. Observation microscopique**

La coloration de Gram permet de différencier les bactéries selon leur Gram en bactéries Gram positif et d'autres Gram négatif et selon leur morphologie cellulaire en bâtonnets ou coques et selon leur mode de regroupement ou d'association (**JOFFIN ET LEYRAL, 1996**).

L'analyse microscopique a montré que tous les isolats étaient Gram positif et catalase négative, deux propriétés qui comptent parmi les caractéristiques des bactéries lactiques.

Selon ( **IZERGHOUF et HABHOUB, 2021**), les résultats des observations microscopiques aux grossissements (G : x 100) avec l'huile à immersion, après coloration de Gram ont montré que les colonies des souches cultivées présentent des cellules à Gram positif, en forme de cocobacilles isolées, groupées en paires, et en chaîne.

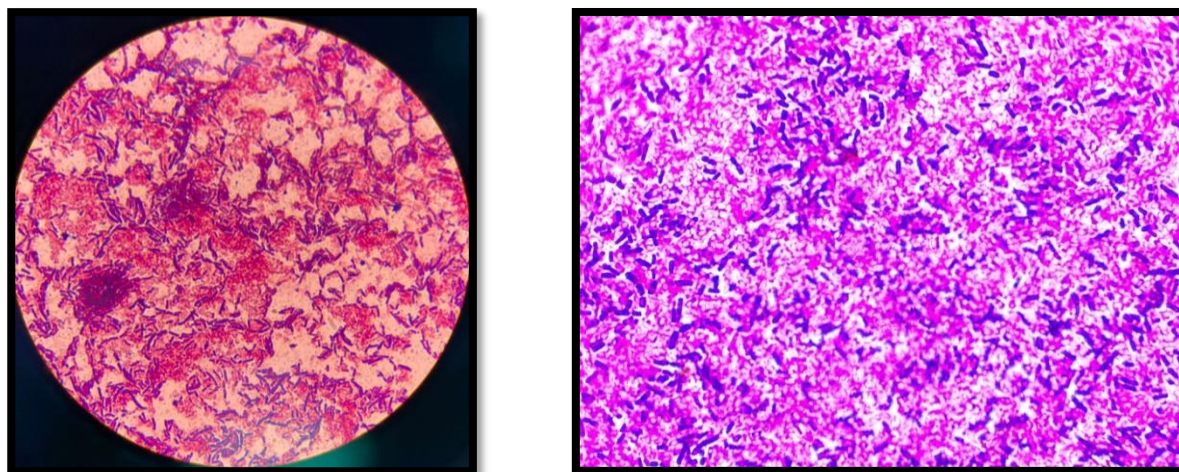


Figure 15 : Observation microscopique après coloration de GRAM en grossissement x100 ( Photo originale, 2022).

Tableau 08 : Caractères morphologiques des bactéries lactiques

Souches	Macro morphologie	Micro Morphologie	T° d'incubation
S1	Colonies blanches rondes ou lenticulaires	Coques en paire ou en chaîne, Gram +	37
S2	Colonies blanches rondes ou lenticulaires	Coques en paire ou en chaîne, Gram +	37
S3	Colonies Lisses arrondies, grisâtres ou blanchâtres	Coques en paire ou en chaîne, Gram +	37
S4	Colonies rondes de couleur blanche crème	Coques groupées en tétrades Gram +	37

Comme il est mentionné dans le tableau 08, ces observations permettent de classer initialement les isolats selon le Gram, leurs morphologies cellulaires et leur mode d'association (JOFFIN ET LEYRAL, 1996).

### II.2.3. Tests physiologiques et biochimiques des isolats

En plus de ces tests basés sur la morphologie des bactéries, nous avons utilisé des tests physiologiques et biochimiques pour déterminer le genre de nos isolats. Les résultats des tests physiologiques et biochimiques sont résumés dans le tableau 09.

**Tableau 09 : Critères biochimiques et physiologiques des bactéries lactiques**

Test	S1	S2	S3	S4
<b>ONPG</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>GLU</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>ARA</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>LDC</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>ODC</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>CIT</b>	(+)	(+)	(-)	(-)
<b>H2S</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>URE</b>	(-)	(+)	(+)	(-)
<b>TDA</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>IND</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>T° 5°</b>	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>T° 40</b>	(+)	(+)	(+)	(+)
<b>CATALASE</b>	(-)	(-)	(-)	(-)

<b>BCPL</b>	D/C	(+)	(+)	(+)	(+)
	S/C	(+)	(-)	(+)	(+)
<b>PH</b>	4,2	(++)	(+++)	(++)	(++)
	4,8	(++)	(+++)	(++)	(+)
	8	(+)	(+++)	(+++)	(+)
<b>NACL</b>	2%	(+++)	(+++)	(+++)	(+)
	4%	(++)	(+++)	(+)	(+)
	6%	(+++)	(++)	(++)	(++)

**+ : réaction positive ; - réaction négative**

Les résultats des tests précédents montrent que toutes les souches se caractérisent par l'absence de catalase et sont toutes capables de croître à pH différent et en présence de NaCl. De même, on note la présence du citrate chez les souches 1 et 2, et le test de l'urée est positive pour les souches 2 et 3.

A la lumière des résultats relatifs à l'observation macroscopique, microscopique et aux test physiologiques, les souches étudiées peuvent être probablement répertoriées aux espèces suivantes:

**Souche 01 :** *Lactococcus lactis*

**Souche 02 :** *Lactococcus lactis*

**Souche 03 :** *Pediococcus acidilactici*

**Souche 04 :** *Streptococcus thermophilus*

### II.3. Etude phytochimique des extraits (*Olea europaea L.* et *Thymus vulgaris L.*)

Pour les plantes utilisées, nous avons fait un screening phytochimique , le calcul rendement de l'extraction , ainsi que le dosage des polyphenols totaux.

#### II.3.1. Screening chimique

Les tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux des feuilles de la plante *Olea europaea L.* et *Thymus vulgaris L.* ont permis de détecter les différentes classes de composés existant. Les tests de coloration et de précipitation ont été les principales voies d'identification de ces substances. Les résultats de ces tests chimiques des extraits aqueux sont regroupés dans le tableau 10

**Tableau 10 : Tests phytochimiques de la partie aérienne de (*Olea europaea L.* , *Thymus vulgaris L.*) (+) : Présence, (-) : Absence**

Tests	<i>Olea europaea L.</i>	<i>Thymus vulgaris L.</i>
<b>Polyphénols</b>	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+	+
<b>Alcaloïdes</b>	-	-
<b>Terpénoïdes</b>	-	+
<b>Saponines</b>	+	+
<b>Quinones libres</b>	+	+
<b>Anthraquinones</b>	+	-
<b>Glycosides cardiaques</b>	+	-
<b>Sucres réducteurs</b>	+	+

D'après les résultats obtenus, nous remarquons :

✚ *Olea europaea L.*: la présence des polyphénols , flavonoïdes , saponines , quinones libres , anthraquinones , glucosides cardiaques et sucres réducteurs tandis que l'absence d'alcaloïdes et terpènes . Les même résultats O obtenus par (HIMOUR et al.,2016).

✚ *Thymus vulgaris L.*: elle contient des polyphénols , flavonoïdes, terpenoïdes , saponine , quinones libres et les sucres réducteurs nous remarquons aussi l'absence des alcaloïdes , anthraquinones et glycosides cardiaques, nos résultats sont comparable à ceux trouvés par (HARAGUCHI *et al.*, 1996; ISMAILI *et al.*, 2001 ; TAMERT, 2016).

### II.3.2. Le rendement des extraits

L'extraction a été effectuée par deux solvants : l'eau et l'éthanol, ce qui a permis l'obtention de deux extraits ; aqueux (EA) et hydroalcoolique (EHA). Le rendement est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante sèche. Les résultats sont illustrés dans le tableau 11.

**Tableau 11 : Résultats de rendement (*Olea europaea .L/ Thymus Vulgaris .L*)**

	Rendement %	
	Aqueux	hydroalcoolique
<i>Olea E. L</i>	31.3%	44.7%
<i>Thymus v. L</i>	16.3%	26.4%

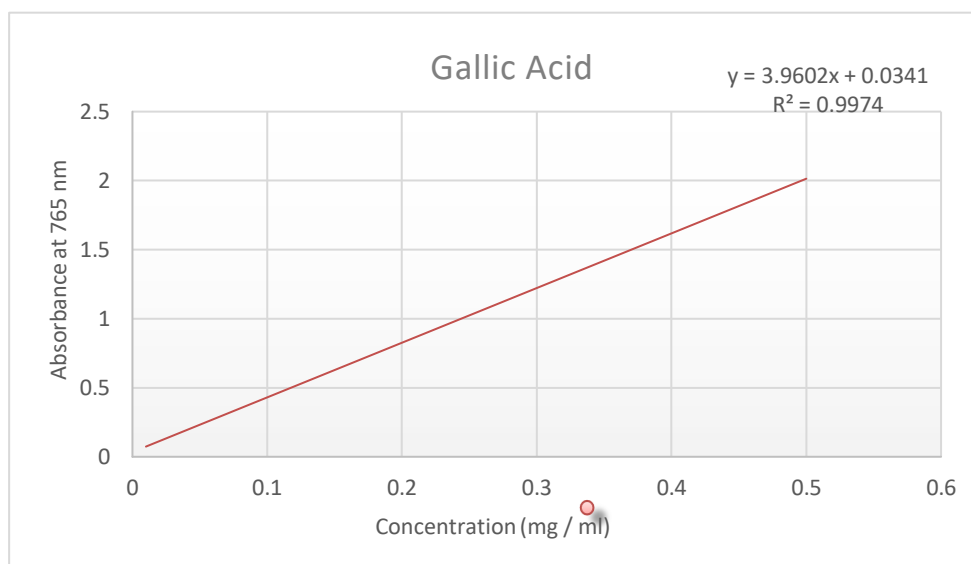
On a remarqué que les rendements des extraits hydroalcooliques pour (*olea. E* et *thymus. V*) sont les plus élevés. Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale.

Selon BOUKERIKA *et al.*, (2019) et BENAHMED *et al.*, (2016), les rendements des extraits aqueux pour (*olea. E* et *thymus .V*) sont plus élevés que nos résultats.

En effet, le rendement n'est pas relatif ; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. D'autre part, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénol et flavonoïdes (LEE, K. *et al.*, 2003).

### II.3.3. Dosage des polyphénols totaux

L'étude quantitative des extraits plantes utilisées au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur totale de polyphénols. Une courbe d'étalonnage (**figure 16**), a été tracée pour cet objective, et réalisée avec l'acide gallique à différentes concentration. Des mesures de densité optique pour chaque extrait se sont réalisées à 760 nm. Les quantités des polyphénols correspondantes ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g), sont déterminées par une équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique de type :  $y = a x + b$  (**WONG *et al.*, 2006**).



**Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

Les valeurs obtenues pour les teneurs en phénols sont résumées dans tableau 12.

**Tableau 12 : Résultats de la teneur totale en phénols (mg EAG/g d'extrait)**

	<i>Olea europaea</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
Phénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	1.68	1.44

Les résultats obtenus montrent que notre extrait est faible en polyphénols.

- ✓ **Les feuilles d' *Olea .E*** : nos résultats est de 1.68 mg EAG/g et sont Similaire aux résultats obtenu par **CHEURFA *et al.*, (2018)** qui montrent que l'extrait aqueux d'*Olea europaea L.* présente un taux de 1.40 mg EAG/g en phénols totaux.

Par rapport à d'autre variété algérienne, **DEBIB *et al.*, (2016)** a montré que l'extrait aqueux de feuilles d'olivier ***Chemlali*** a un contenu phénolique d'ordre de 10.5 mg EAG/g de matière sèche.

- ✓ **Les feuilles d' *Thymus. V*** : Les résultats de dosage montrent qu'elle contient des niveaux plus faible de polyphénols (1.44 mg EAG/g) et non résultats sont très faibles au ceux obtenus par (**YAKHLEF *et al.*,2011**) , à savoir un teneur en polyphénol de 67,63mg EAG/g.

La quantité des composés phénoliques des extraits de plantes varie d'une herbe à l'autre dans différentes régions du monde. Cette différence peut être expliquée par de nombreux facteurs tels que les origines génétiques, l'effet climatique environnemental (saison de croissance courte, température chaude, sécheresse, forte exposition solaire), la composition du sol et le type de solvant utilisé à travers le protocole d'extraction. Il apparaît donc que la teneur en phénols a montré des variations notables avec la croissance des plantes (**ZAIRI *et al.*, 2018 ; EDZIRI *et al.*, 2019**).

#### **II.4. Etude de l'effet du supplément en extraits des plantes sur le aptitudes technologiques des souches lactiques**

Les bactéries lactiques sont traditionnellement utilisées comme levains "naturelles" ou "sélectionnées" dans la fabrication des fromages et la fermentation des produits laitiers à cause de leurs fonctions de préservation et leur contribution aux propriétés organoleptiques (**GULAHMADOV *et al.*, 2006**).

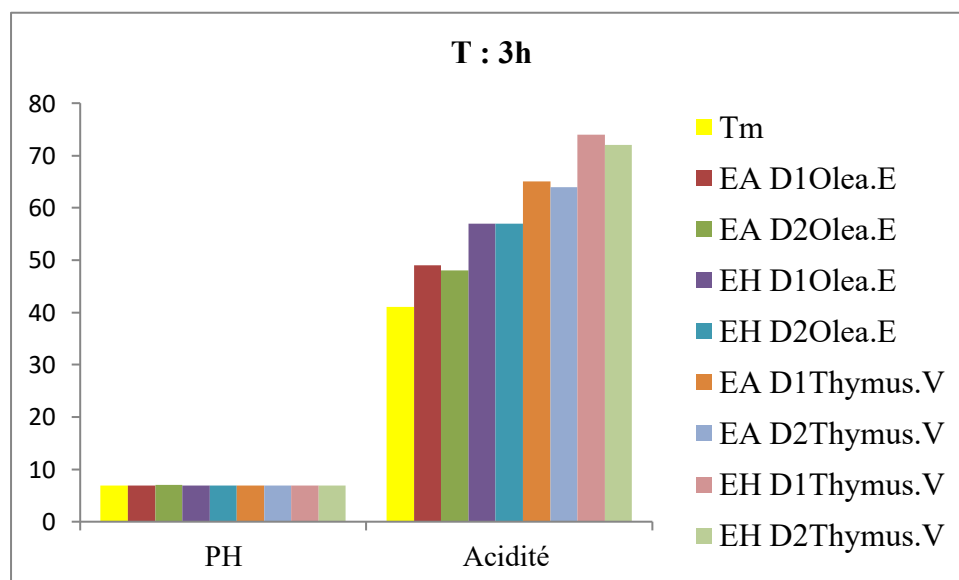
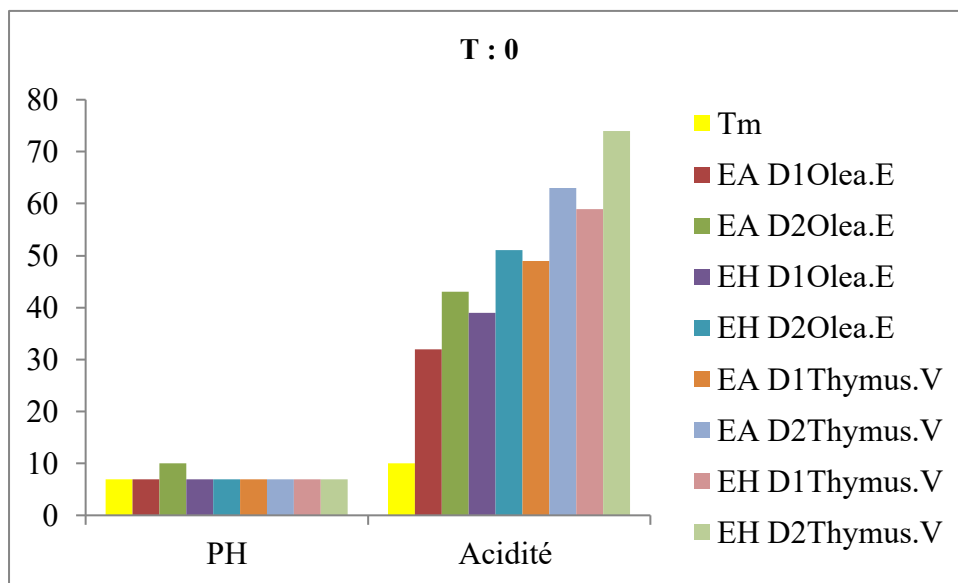
##### **II.4.1. Pouvoir acidifiant**

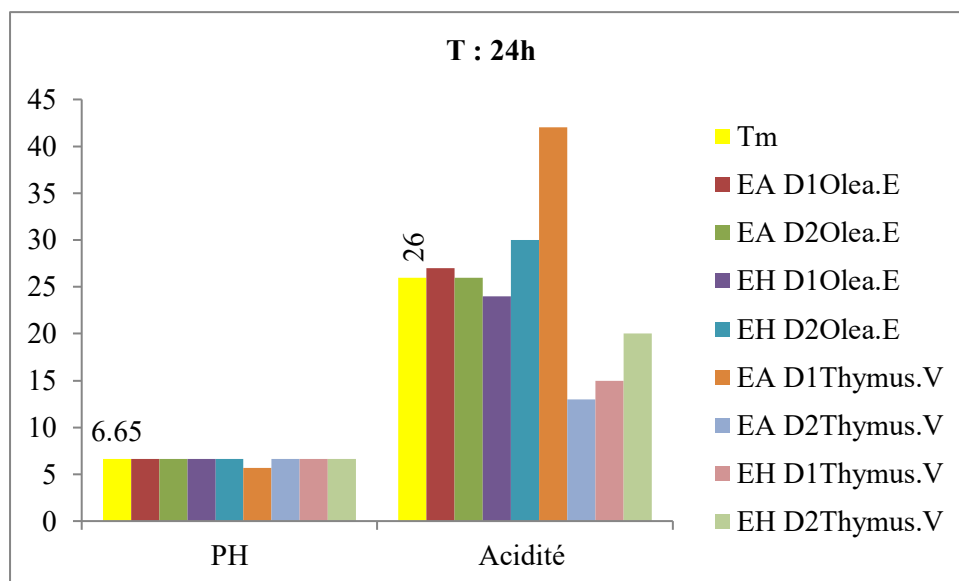
Le suivi de l'activité acidifiante des souches étudiées a été réalisé sur le milieu lait écrémé stérilisé. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 17 .

La plupart des producteurs fermiers insulaires utilisent la flore lactique naturelle pour provoquer l'acidification nécessaire à l'égouttage du caillé et à sa protection contre le développement de germes de contamination. Cette pratique présente l'avantage de faire travailler une flore variée qui peut être représentative de la fromagerie, ce qui contribue à fournir au fromage un goût caractéristique (CASALTA *et al.*, 1995).

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

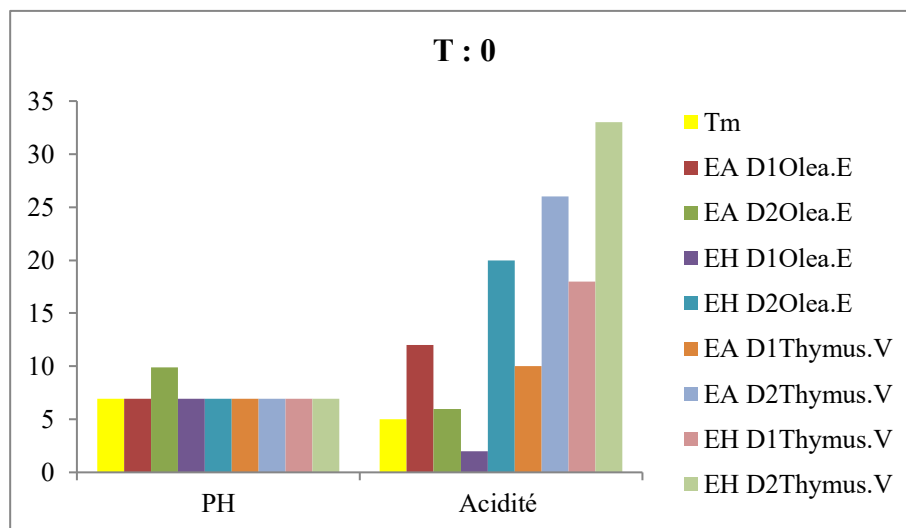
La coagulation du lait par les bactéries lactiques peut être provoqué soit par la transformation progressive du lactose du lait en acide lactique qui provoque l'abaissement du pH et la coagulation du lait ; soit par un système enzymatique ou enzymes protéolytiques qui ont la propriété de coaguler le lait.

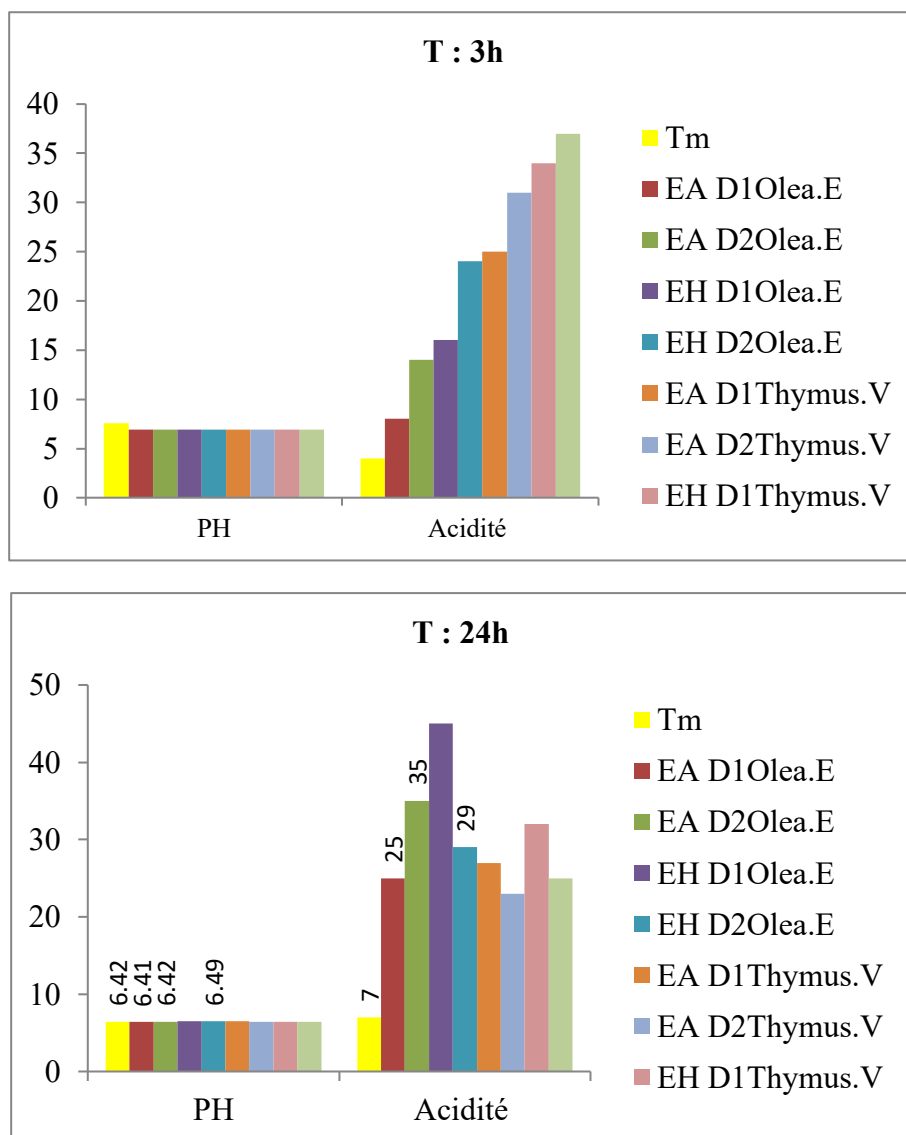




**Figure 17 : Effet des extraits des plantes sur pH et de l'acidité Dornic de la souche *Lactococcus lactis* en fonction du temps**

*EA :extrait aqueux ; EH : extrait hydroalcooliques ;D1 : 10mg ; D2 :20mg ; TM : témoin*





**Figure 18 : Effet des extraits des plantes sur pH et de l'acidité Dornic de la souche *Pediococcus acidilactici* en fonction du temps**

*EA* :extrait aqueux ; *EH* : extrait hydroalcooliques ; *D1* : 10mg ; *D2* :20mg ; *TM* : témoin

D'après ces résultats, nous remarquons que la totalité des bactéries lactiques identifiées présentent une production progressive en acide lactique. Cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu.

Pour le témoin ( cas d'absence des extraits plantes ) , *lactococcus lactis* au cours de l'incubation (0 à 24 h) a 37°C, les valeurs de pH ont diminué de 6,94 à 6,65, parallèlement à l'évolution de l'acidité de 10° à 26°.

La souche *Pediococcus acidilactici* montre également une diminution du pH qui atteint après la même période d'incubation de 6,65 à 6,42 et une acidité de 5° à 7°.

Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études et rejoignent ceux de (ZADI-KARAM, 1998 ; MANNU et al., 2000 ; ALONSO-CALLEJA et al., 2002 ; IDOUI et al., 2009)

Dans le cas l'ajout de l'extrait d'Olea E (aqueux 10 mg/20 mg - hydroalcoolique 10 mg/20 mg). Pendant la période de 0 h à 24 h, la souche *Lactococcus lactis* a présenté une activité acidifiante lent a moyenne par rapport au témoin.

*Pediococcus acidilactici* était semblé plus acidifiante en produisant des quantités variables d'acide lactique. La résultat de l'extrait hydroalcoolique a 10mg a montré que cette dernière souche produit une valeur élevée d'acide lactique de 45°d après 24 h .

Dans le cas l'ajout de l'extrait thymus V (aqueux 10mg /20 mg - hydroalcoolique 10 mg/20 mg) *Lactococcus lactis* , *Pediococcus acidilactici* possèdent une activité acidifiante très lentes après 24h d'incubation par rapport au témoin , sauf le cas de l'extrait aqueux a 10mg la souche a montré un pouvoir acidifiant important avec une concentration d'acide lactique de 42°d et un ph de 5.7 après une incubation a 37°c pendant 24 h.

L'activité acidifiante pour les deux souches lactiques après 3h d'incubation en présence des extraits plantes est optimal.

#### II.4.2. Pouvoir protéolytique :

Les systèmes protéolytiques des bactéries lactiques sont importants, en tant que moyen qui rendent la protéine et le peptide disponibles pour la croissance et essentiellement, en tant qu'élément de traitement dans les procédés de maturation qui donnent aux aliments leurs propriétés rhéologiques et caractéristiques organoleptiques (LAW et KOLSTAD, 1983).

Après incubation, l'activité protéolytique c'est manifesté par l'apparition d'un halo clair autour des coloniesensemencées en surface des géloses. Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont résumés dans la figure 19 et 20

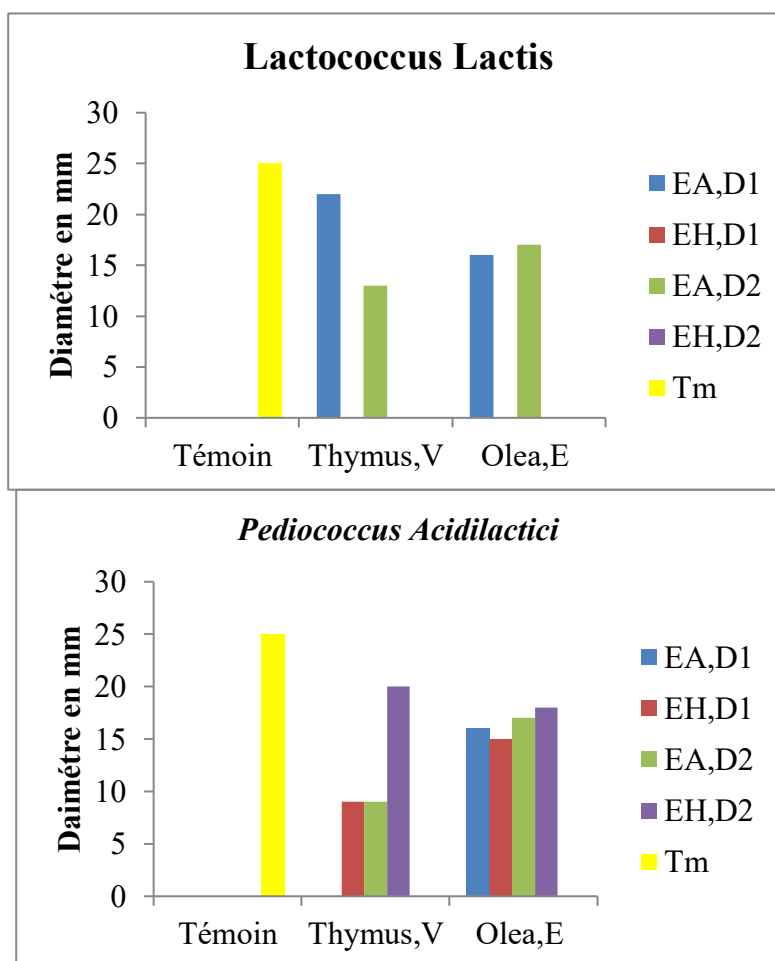


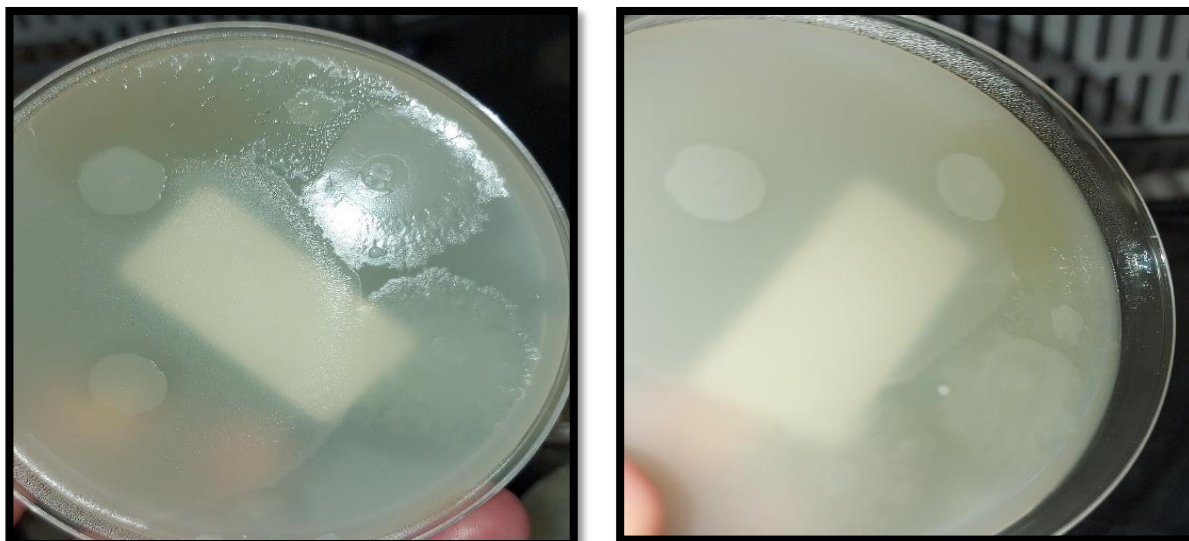
Figure 19 : Effet des extraits des plantes sur l'activité protéolytique des souches *Lactococcus Lactis* et *Pediococcus acidilactici*

*EA* : extrait aqueux ; *EH* : extrait hydroalcooliques ; *D1* : 10g ; *D2* : 20g ; *TM* : témoin

Les résultats montrent que les deux souches lactiques (témoin : absence d'extrait plante) ont une activité protéolytique forte, avec une moyenne de 25mm. Le cas de présence des extraits de thymus et d'olea E (aqueux 10mg/20mg – hydroalcoolique 10mg/20mg), on a remarqué pour la souche *Lactococcus lactis* ; l'apparition des halos presque similaire en diamètre donc une activité protéolytique moyenne par rapport au témoin et l'absence totale des halos chez les extraits hydroalcooliques d1,d2.

De même, on note la présence des halos à faible diamètre de 9mm en cas de l'extrait EH d1 ;EA d2, dans le cas de la souche *Pediococcus acidilactici* et leur absence en cas de l'extrait EAD1 de thymus. Par contre l'activité protéolytique est faible pour cette souche en présence d'extrait olea E.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **IDOUI et KARAM, (2008)**, qui ont trouvé que les bactéries lactiques, isolées à partir du beurre de vache traditionnel de la région de Jijel et du beurre de chèvre, présentent un caractère protéolytique. Ce caractère est essentiel pour les bactéries lactiques pour leur croissance dans le lait ainsi que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers.



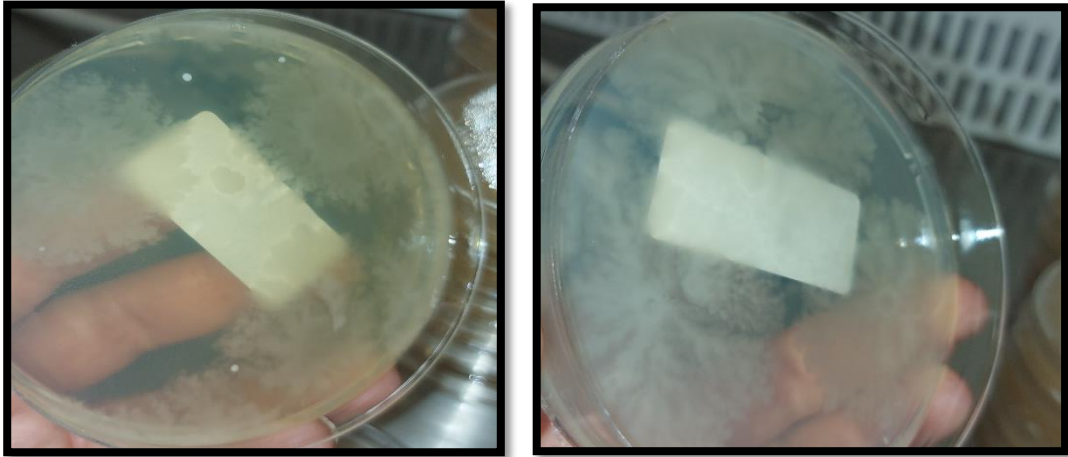
**Figure 20 : Résultat positif du test de l'activité protéolytique des souches *Lactococcus Lactis* et *Pediococcus acidilactici***

#### II.4.3. Pouvoir lipolytique

**STADHOUDERS ET MULDER (1958)**, ont observé que certaines souches de microcoques ont hydrolysé la matière grasse du lait en crème dans les conditions du laboratoire, mais n'ont pas hydrolysé la graisse de fromage. Cependant, d'autres auteurs ont rapporté que l'utilisation des souches choisies de microcoques améliore la saveur du fromage (**REITER *et al.*, 1967; SCHLEIFER ET KLOOS, 1975**).

Notre résultat montre que les deux souches étudiées n'ont pas une activité lipolytique c'est à dire l'absence des halos en présence et en l'absence des extraits plantes. Selon (**CROW *et al.*, 1994, SAHNOUNI, 2013**), les lactocoques possèdent une faible activité lipolytique.

Les travaux de **FERNANDEZ *et al.*, (2000)**, ont montré que l'activité est éradiquée n'était pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques ni dans un milieu synthétique, ni dans du lait écrémé ou entier.



**Figure 21 : Résultat négatif du test de l'activité lipolytique des souches *Lactococcus Lactis* et *Pediococcus acidilactici***

# **Conclusion**

### Conclusion

La présente étude a été conduite dans le but de connaître l'effet des extraits végétaux sur l'amélioration des propriétés technologiques de la population lactiques présente dans le fromage traditionnel. A l'issue de notre travail nous avons trouvé que :

les analyses physicochimiques des échantillons, Les deux souches utilisées dans cette étude ont été isolées, purifiées et identifiées sont (*Lactococcus lactis* , *Pediococcus acidilactici* ). la présence des polyphénols , flavonoïdes , saponines , quinones libres , glucosides cardiaques et sucres réducteurs dans les parties aériennes des deux plantes (*thymus vulgaris*.1/ *olea europaea*.1). Les résultats de l'estimation des composés phénoliques ont montré que les deux extraits sont faible en polyphénol totaux de (1.68 mg EAG/g , 1.44 mg EAG /g).

D'après les résultats de l'étude des aptitudes technologiques, nous avons pu déduire que, l'incorporation des extraits des deux plantes *Thymus vulgaris L.* et *Olea europaea L.* à différentes doses a améliorée moyennement le pouvoir acidifiant des bactéries *Lactococcus lactis* et *Pediococcus acidilactici*.

Nos résultats révèlent que la souche *Lactococcus lactis* a une capacité d'acidification élevée en présence d'extrait aqueux de thym (10 mg) à 42D° avec un pH bas de 5,7 après 24 h d'incubation. Egalement chez *Pediococcus acidilactici*, l'ajout de l'extrait hydroalcoolique d'*Olea. E* à 10 mg a augmenté l'acidité jusqu'à 45D° après 24 heures d'incubation.

Le pouvoir protéolytique s'est traduit par l'apparition d'un halo clair sur milieu m17 additionné de lait écrémé, est moyen pour les deux souches en présence de l'extrait thym (10mg aqueux – 20mg hydroalcoolique)

A partir de cette étude, on a permis d'avoir une idée sur la nature de la flore lactique présente dans le fromage traditionnel camelin, et on conclure que l'addition des extraits plantes peuvent améliorer quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées.

Ces observations ouvrent des perspectives futures:

- Identification moléculaire est très essentielle pour mieux identifier les isolats.

- Etude de la stabilité des molécules dans les conditions industrielles : pH, température.....etc. Ainsi que l'optimisation du rendement de productivité des souches sélectionnées.
- Etude in vitro des autres souches lactiques possèdent une bonne aptitude en présence des extraits plantes.

**Références**

**Bibliographiques**

- **Abbas S, Ashraf H, Nazir A, Sarfraz L (2013).** Physic-Chemical Analysis and Composition of Camel Milk. *International Research* 2: 85-98.
- **Abdessemed, S. (2017).** Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier *Olea europaea*. L dans la région des Aurès (Doctoral dissertation, Université de Batna 2)
- **Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F. (2009)** Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* *Turk. J. Biol.* 30 : 239-242.
- **Aguirre, m., collins, m.d. (1993).** Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of applied bacteriology*, 75: 95-107.
- **Alais C. (1975).** **Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition : Sepaic, Paris.**
- **ALAIS C. et Lindeng . (1993).** Biochimie alimentaire. Masson, 2ème édition Paris.
- **Alonso-calleja c., carballo j., capita r., bernardo a., and garcia-lopez m.l., 2002.** Changes in the microflora of valdeteja raw goats milk cheese throughout manufacturing and repening. *Lebensmittel-wissenschaft und technologie* 35, 222-23
- **Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.
- **API10s. 08052G - FR - 2006/02.** Système d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux
- **ATIE.S,1994.**Essais de fabrication de fromage frais et fondu à base de caséine. Mémoire de fin d' études. Institut agronomique de Mostaganem; PP : 2 - 29.
- **Axelsson I.t. (2004).** Lactic acid bacteria: classification and physiology. In lactic acid bacteria – microbiology and functional aspects. Edited by s. Salminen, a.v. Wright et a. Ouwehand. Marcel dekker, inc. 1-66. 12
- **BADIS, A., LAOUABDIA, S., GUETARNI, D., KIHAL, M., & OUZROUT, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et kabyle". *Sciences & Technologie*, 23, 30-37.
- **Badis, a.n., laouabdia-sellami, d., guetarni, m., kihal. And ouzrout, r. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de

- chèvre de deux populations caprines locales «arabia et kabyle». *Sci. Technol* 23: 30-37.
- **Balladin D.A; Headley, O. (1999).** Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. 17: 523-531
  - **Bazo m., (2011).** Recherche des effets de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques sur le streptococcus aureus résistant à la méthiciline (sarm). Mémoire.
  - **Béal c, marin m, fontaine e, fonseca f et obert j.p, (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (corrieu g. Et luquet f.m.). Tec et doc, lavoisier. Paris. 661.
  - **Belkheir, k. (2017).** Caractérisation technologique de nouvelles souches de bactéries lactique isolées du lait de chamelle d'algerie réalisation de ferments lactiques. Génie microbiologique, oran 1 ahmed ben bella. Doctorat 198.
  - **Belyagoubi I., 2014.** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de doctorat en biologie. Université aboubakrbelkaïd-tlemcen. 170p.
  - **Bennama, r. (2012).** Streptococcus thermophilus : isolement et recherche systématique de souches indigènes productrices d'exopolysaccharides, oran. Doctorat: 153
  - **Bor, T., Aljaloud, S. O., Gyawali, R., and Ibrahim, S. A.(2016)** Antimicrobials from herbs, spices, and plants. Pages 551-578 in *Fruits, Vegetables, and Herbs: Bioactive Foods in Health Promotion Vol. 2.* Elsevier Inc
  - **Boudhrioua N., Bahloul N., Slimen I. B et Kechaou N., 2009.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products* . 29(2-3) : 412-419.
  - **Boukerika S, Boumizez S, Hariti S.(2019).** Activité antioxydante de *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill. et d'*Arum italicum* Mill. de la wilaya de Jijel (étude in vitro). Mémoire de Master. Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel .
  - **Boullouf, A. (2016).** Etude de pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel<<bouhezza>>. Magister thesis, Frères Mentouri university, Constantine, 72 p
  - **Boyaval p., terré s et corre c., 1988.** Production d'acide lactique à partir de permeat de lactosérum par fermentation continu en réaction à membrane lait : 1: pp 65-84.

- **Brahimi, S. (2015).** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolée à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Thèse magister Biodiversité des micro-organismes non publiée, Université d'Oran, Oran.
- **Brule G. Lenoir J, Remeuf F .1997 .** La micelle de caséine et la coagulation du lait en fromage. 3ème Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- **Casalta e., vassal y., desmazeaud m.j. And casabianca f., 1995.** Comparison of the acidifying activity of lactococcus lactis isolated from corsican goat milk and cheese. Food science and technology-lebensmittel-wissenschaft & technology 28, 291- 299.
- **Ceylan, E., et D. Y. C. Fung. 2004.** Antimicrobial activity of spices. J. Rapid. Meth. Aut. Mic., 12: 1-55.
- **Cheriguene a. 2008.** Caractérisation et Etude du Potentiel Technologique des Bactéries Lactiques isolées à Partir du Lait de Chèvre de l'Ouest Algérien. Thèse doctorat. Université d'ORAN Es Senia-ORAN.
- **Cheurfa M., Abdallah H.H., Allem R., Noui A., Picot-Allain C.M.N. et Mahomoodally F., 2019.** Hypocholesterolaemic and antioxidant properties of *Olea europaea* L. leaves from Chlef province, Algeria using in vitro, in vivo and in silico approaches. Food and chemical toxicology, 123, 98-105
- **Codex Alimentaires, 2006.** Codex General Standard for Cheese: CODEX STAN A-6-1978. 26th Session FAO/WHO Food Standards Programme.
- **Corrieu g., luquet f m., (2008).** Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Ed. Lavoisier. Paris. France : pp 472 -676.
- **Corrieu, g. & luquet, f. M. (2008).** Bactéries lactiques : de la génétique au ferment. Paris : édition tec et doc p. 849.
- **Crow v.l., holland r., pritchard g.g. Et coolbear t., 1994.** The diversity of potential cheese ripening characteristics of lactic acid bacteria. Int. Dairy j. 4 : 723-742.
- **De vos p., garrity g. M., jones d., krieg n. R., ludwig w., rainey f. A., schleifer kh., whitman w. B., (2009).** Bergey's manual of systematic bacteriology, second edition, volume 3: the firmicutes, springer usa, 1422 p.
- **Debib A. et Boukhatem M.N., 2017.** Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of "Chemlali" Olive Leaf (*Olea europaea* L.) Extracts. International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine, 6, 38–46.

- **Desmazeaud m., 1983** - comment les bactéries lactiques se comportent elles dans le lait. technique laitière: 976 : pp11-14
- **Desmazeaud m.j., de roissart h., (1994)**. Métabolisme général des bacteries lactiques in « bacterie lactique ». De roissard et luquet, tech.doc.,lavoisier, paris.
- **Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H., 2002**. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3010–3014.
- **Diarra M S., Petitelerc D and Lacasse P (2002)**. “Effect of lactoferrin in combination with Penicillin on the Morphology and the Physiology of S. aureus Isolated from Bovine Mastitis. *J. of Dairy Sci.* 85, 1141-1149.
- **Directorate Agricultural Information Services**. Department of Agriculture, Forestry and Fisheries Private Bag X144, Pretoria, 0001 South Africa. 2009.
- **Dridier d., prevost h., (2009)**. Bacteries lactique physiologie, métabolisme, génomique et application industrielle. Ed, economisa 49 rue harica 75015 paris : pp 381- 427.
- **Edziri H., Jaziri R., Chehab H., Verschaeve L., Flamini G., Boujnah D., ...et Mastouri M., 2019**. A comparative study on chemical composition; antibiofilm and biological activities of leaves extracts of four Tunisian olive cultivars. *Heliyon*, 5(5), e01604.
- **EL-agamy E I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C P and Assaf r (1996)**. “Purification and characterization of Lactoferrin, Lactoperoxydase, Lysozyme and Immunoglobulins from camel's milk”. *Int. Dairy J.*, 6: 129-145.
- Erbay, Z., & Icier, F. 2009 . Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of food engineering*, 91(4), 533-541.
- **FAO/OMS., 1999**. Norme générale pour le fromage. CODEX STAN A-6- 1978, Rev.1-1999,6 Pages.
- **Farah Z., Rüegg M.W, (1989)**. The size distribution of casein micelles in camel milk. *Food Microstructure*, 8, 211-216.
- **Farah, Z., et Bachman, M.R. (1987)**. Rennet coagulation properties of camel milk. *Milchwissenschaft*, 42, 689-692.
- **FAYE B., (1997)**: Guide d'élevage du dromadaire (CIRAD.EMVT) 1° édition. France

- **Fegeros K., Zervas G., Stamouli S. and Apostolaki E., 1995.** Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. In: J. Dairy Sci., 78, p. 116-1121.
- **Fernandez I., beerthuyzen m.m., brown j., coolbear t., holland r. Et kuipers o.p., 2000.** Cloning, characterization, controlled overexpression and inactivation of major tributyrin esterase gene of lactococcus lactis. App. Env. Microbiol. 66 : 1360-1368.
- **Fernández-Escobar R., García-Novelo J.M., Molina-Soria C. et Parra M. A., 2012.** An approach to nitrogen balance in olive orchards. Scientia horticulturae, 135, 219-226.
- **Fettah, A. (2019).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat. Algérie, pp 120.
- **G. Yakhlef1, S. Laroui1, L. Hambaba1, M.-C. Aberkane2, A. Ayachi. (2017)** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle article
- **Garcia-Gómez, A., Roig, A., & Bernal, M. P. 2003 .** Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. Bioresource Technology, 86(1), 59-64.
- **Gharabi, D., 2018.** Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morphobiochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduites non greffés et greffés sur oléastre. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes .166 pages.
- **Gilarová r., voldrich m., demnerová k., cerovský m. And dobiás j., 1994.** Cellular fatty acids analysis in the identification of lactic acid bacteria. Int j food microbiol, 24(12): 315–319.
- **Guiraud j.p., 2003.** Microbiologie alimentaire. Tec & doc, dunod. Paris. 90-292.
- **GUIRAUD J.P., 1998.** Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris ; PP : 140 - 420.
- **Gul W, Farooq N, Anees D, Khan U, Rehan F (2015).** Camel Milk: A Boon to Mankind. Int J ResStudBiosci (IJRSB) 3: 23-29.
- **H. Falleh, r. Ksouri, k. Chaieb, n. Karray-bouraoui, n. Trabelsi, m. Boulaaba and c. Abdelly.** Phenolic composition of cynara cardunculus l. Organs, and their biological activities. Compt. Rend. Biol. Vol. 331. (2008). Pp. 372-379.

- **Haddadin M S Y., Gammoh S I and Robinson R K (2008).** “Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan”. *Journal of Dairy Research.* 75: 8-12.
- **Hadef sawsen., 2012.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Thèse de magister en microbiologie appliquée. Université kasdi merbah ouargla.
- **Hagerman AE, Muller-Harvey I, Makkar HPS (2000):** Quantification of tanins in tree foliage. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture. Vienna, 26p.
- **Hala, M., Ebtisam, E., Sanaa, I., Badran, M., Marwa, A., and Said, M. (2010)** Manufacture of low fat UF-soft cheese supplemented with rosemary extract (as natural antioxidant). *J. Am. Sci.* 6, 570-579
- **Hamid EL - Haoud , Moncef Boufellous , Assia BERRAN , Hind Tazougart et Rachid Bengueddour .** SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE : MENTHA SPICATA L. *Am . J. innov . res . appl . sci .* 2018 ; 7 ( 4 ) : 226-233 .
- **Hamidi M ; (2015).** Etudes des propriétés fonctionnelles et des aptitudes à la coagulation du lait de dromadaire par la couche de kaolin du gésier des poules. Thèse de Doctorat en sciences agronomiques. Université Mohamed Khider-Biskra, Algérie.
- **Hammes w.p. And hertel c., 2006.** The genera lactobacillus and carnobacterium. Chap. 1.2.10. In prokaryotes. 4: 320-403.
- **Hammes, wp., hertel, c. (2006).** the genera lactobacillus and carnobacterium. The prokaryotes, springer: 320-403.
- **Hammi, i. (2016).** Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactique isolées à partir de produits fermenté marocains et de différentes variétés de fromages français. Strasbourg et sidi mohamed ben abdallah. Doctorat: 14
- **Hassaïne o., zadi-karam h. Et karam n.e., 2007.** Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of algerian dromedary (camelus dromedarius). *Afr. J. Biotechnol.* 6 (14) : 1720-1727.
- **Hassan A., El zubeir I E M and Babiker S A (2008).** “Chemical and microbial measurements of fermented camel milk “Gariss” from transhumance and nomadic herds in Sudan”. *Aust. J. Basic & Appl. Sci.* 2: 800-804.

- **Hassan R. A; El Zubeir I. M. E; et Babiker S. A;** (2008). Chemical and microbial measurements of fermented camel milk (gariss) from transhumance and Nomadic herds in Sudan. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*2(4) : 800-804.
- **Heleni s., lefki p., nikolaos t. And evanthia lt.,** 2006. Populations, types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories. *Int. J. Dairy technol.* Vol. 59, no3, pp. 200-208.
- **Hermier, j., lenoir, j. Et weber, f.** (1997). Rôle des bactéries lactiques dans la production des facteurs anti microbien, les groupes microbien d'intérêt laitier.
- **Himour S., Yahia A., Belattar H. et Bellebcir L.,** 2016. Etude phytochimique des feuilles d'Olea europaea L. var Chemlel d'Algérie. *Journal of Bioresources Valorization*, 1(1), 34
- **Ho t.n.t., tuan n., deschamps a. Et caubet r.** (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (lab) of the nem chua fermented meat product of vietnam. *Int. Workshop food safety processing technol* 134-142.
- **Idoui t., boudjerda j., leghouchi e. Et karam n.e.,** 2009. Lactic acid bacteria from “sheep’s dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites.* 60 (2): 177-183
- **Imbert m., bondaeu r.,** (1998) .on the iron requirement of lactobacilli grown in chemically de fined medium. *Curr. Microbiol.* 37: pp 64-66.
- **Izerghouf t, Habhoub s,** (2021). Activité antimicrobienne et protéolytique des bactéries lactiques isolées du lait et des produit laitiers fermentés. Mémoire de master en microbiologie appliqués . Université de Larbi Tébessi –Tébessa *J. Microbiol. Res.* 7(12): 1002-1008.
- **J.O.R.A N°63** (1993). Arrêté interministériel du 18/08/1993, relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
- **Johnson T,** 1998, CRC ethno botany desk reference. CRC Press, 1224p
- **Jrad Z., EL hatmi H., Fguiri I., Arroum S., Assadi M and Khorchani T**(2013). “Antibacterial activity of Lactic acid bacteria isolated from Tunisian camel milk”. *Afr.*
- **Kamoun M. et Ramet J.P.,** (1989). Conservation et transformation du lait de dromadaire. *Option Médit., Série Séminaire* 6, 229-231
- **Kang, k.h., shin, h.j., park, y.h .and lee, t.s.** (1989). Studies on the antibacterial substances produced by lactic acid bacteria: purification and some properties of

- antibacterial substance ribiflongin produced by *B. Longum*. *Korean dairy sci* 1: 204-16.
- **Karakaya S., 2009.** Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 67(11), 632-8 .
  - **Kenneth t, (2011).** Lactic acid bacteria. Online textbook of bacteriologie. (en ligne).
  - **Khalisani, k. (2011).** An overview of lactic acid bacteria. *International journal of biosciences (ijb)*, 1, 1-13.
  - **Khan A.M., Qureshi R.A., Ullah F., Gilani S.A., Nosheen A., Sahreen S. 2011.** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5 : 6017-6023.
  - **Khelifi ,H (2022).** Effets inhibiteurs des extraits de *Thymus vulgaris* sur *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, impact sur la qualité et la stabilité d'un lait fermenté étuvé. En *Sciences et Technologies Alimentaires*. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem. Thèse doctorat .
  - **Khorshidian, N., Yousefi, M., Khanniri, E., and Mortazavian, A. M. (2018)** Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 45, 62-72
  - **Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M. (2004)** Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65 : 3279-3287.
  - **Klaenhammer, tr., Barrangou, r., Buck, bl., Azcarate-Peril, m.a., Altermann, e. (2005).** Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health, *FEMS Microbiol Rev*. 29 (3):3
  - **Klein, g., Pack, a., Bonaparte, c. Et Reuter, g. (1998).** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 41: 103-125.
  - **König h. And Fröhlich j., 2009.** Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-verlag, Berlin Heidelberg.
  - **Kulšić T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006)** Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) : 485-492.
  - **Kumar YK, Rakesh K, Lakshmi P, Jitendra S (2015).** Composition and medicinal properties of camel milk: A Review. *Asian Journal Of Dairy And Food Research* 34: 83-91.

- **Larpent j. p. et Lairpent M.G. , 1990.** Memento technique de microbiologie . Second Ed Technique et Documentaire Lavoisier . 417
- **Larpent J.P, 1997.** Memento technique de microbiologie Lavoisier - Paris : PP : 774 - 780.
- **Larpent J.P, Larpent M.J, 1985.** Elément de microbiologie. HERMANN. PP : 342 – 349
- **Larpent s.p. 1997.** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Ed. Tech et doc, lavoisier, paris.
- **Law b.a. And kolstad j., 1983.** Proteolytic systems in lactic acid bacteria. Antonie van leeuwenhoek 49: 225-245.
- **Lazreg, I. (2017).** Bactériocines d'entérocoques isolés de lait cru et beurre de l'ouest algérien, oran. Thèse doctorat
- **Lechardeur, d. (2011).** Using heme as an energy boost for lactic acid bacteria. Curr opin biotechnol 22: 143-9.
- **Lee O.H., Lee B., Lee J., Lee H-B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K., Kim Y.C ., 2009.** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. Bio resource Technology, 100, 6107-6113 .
- **Leroy f et de vuyst I. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Treat. Food sci. Technol. 15,
- **Leveau j.y. Et bouix m., 1993.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & doc, lavoisier. Paris. 85-87.
- **Leyral G., 2003.** Aliments et Boissons. filières et produits, éd. CRDP d'Aquitaine, Paris, pp 37-50
- **Lipshitz N., Gophna R., Hartman M., Biger G. 1991.** The beginning of olive (*Olea europaea*) cultivation in the Old World: are assessments. *Journal of Archaeological Science*, 18(4): 441-453.
- **Luquet f m., (1986).** Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, t3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed .technique et documentation. Paris : pp 343-442.
- **Luquet f.m. Et corrieu g., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Tec & doc, lavoisier. Paris. 3-37.

- **Maghnia d., 2011.** Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériens. Mémoire de magister en microbiologie alimentaire. Université d'oran-es-senia. 126p.
- **Majdi A., (2009).** 'Les fromages AOP et IGP.', in Séminaire sur les fromages AOP et IGP. INT-Ingénieur agronomie, 88p.
- **Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R. 2003.** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 77-82.
- **Makhloufi k.m., 2011.** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza. Thèse de doctorat en microbiologie, biochimie. Université pierre et marie curie-paris 6. France. 200p.
- **Makhloufi, k. M. (2011).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv) mc auliffe et al (2001). In bacteriocins: biological tools for bio preservation and shelf-life extension. International .dairy .journal .2006
- **Mana H., Drif F.( 2017).** Caractérisation physico-chimique et organoleptique de trois laits (Vache, chèvre, brebis) et fabrication du fromage frais.Mémoire de master.Université M'hamedBougaraBoumerdes.
- **Martín-García, T., & Baizán, P. 2006.** The impact of the type of education and of educational enrolment on first births. *European sociological review*, 22(3), 259-275.
- **Mazali j., (1992).** Bioconversion de permeat de lactosérum par de cellules lactobacilles in mobilisées sur un support solide. Mémoire. Université du québec. Inrs-ea: pp 5-7.
- **Mebrek,s ( 2019).** Etude des propriétés biologiques de l'association du bêtaglucane de l'orge et des bactéries lactiques isolées du lait de chamelle chez les rats Wistar . en science biologique . Université de Sidi Bel-Abbés . these Doctorat .
- **Mechai, a.b. (2009).** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse doctorat biochimie. Université badji-mokhtar- annaba. 2009.
- **Mezarja , K (2018).** Essai de Fabrication d'un fromage frais à partir de souches autochtones . Mémoire de master en biologie . Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

- **Monnet v., latrille e., beal c. Et corrieu g., 2008.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : bactéries lactiques de la génétique aux ferments (corrieu g. Et luquet f.m.). Tec & doc, lavoisier. Paris. 512-592.
- **Morales, R. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- **Moulay , M (2013) .** Contribution à l'étude et la caractérisation des lactocoques indigènes isolés du lait cru de chèvre et les produits laitiers Algériens.en microbiologie . université d'Oran. Thèse doctorat.
- **Moussouni I. 2016.** Contribution à l'étude physic-chimique des échantillon d'huile des échantillon d'huile d'olive et leur mélange.
- **Mozzi, f., raya, r. R., vignolo, g. M. (2010).** *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*. Blackwell publishing, singapore.
- **N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1), 1- 15.
- **Nefzaoui, A. 1995.** Feeding value of Mediterranean ruminant feedresources. *Advanced course*. Syria, 12-23.
- **Nieto, G., Ros, G., and Castillo, J. (2018)** Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *J. Medicines* **5**, 98
- **Olmedo, R. H., Nepote, V., and Grosso, N. R. (2013)** Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *Food Sci. and Techn.* **53**, 409-417
- **Omore A., Staal S.J., Osafo E.L.K., Kurwijilla L., Barton D., Mdoe N., Nurah G. and Aning G. (2004).** Market Mechanisms, Efficiency, Processing and Public Health Risks in Peri-Urban Dairy Product Markets: Synthesis of Findings from Ghana and Tanzania, *Livestock Res. Inst.*, 131 p.
- **Oraon, L., Jana, A., Prajapati, P., and Suvera, P. (2017)** Application of Herbs in Functional Dairy Products – A Review. *J. Dairy Vet. Anim Res.* **5**:109-115
- **Özcan M., J.-C. Chalchat (2004)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30 (4) : 68-73.
- **Özcan, M. M., & Matthäus, B., 2017.** A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology.* 243(1) : 89-99

- **Palmeri, R., Parafati, L., Trippa, D., Siracusa, L., Arena, E., Restuccia, C., Fallico, B., 2019.** Addition of Olive Leaf Extract (OLE) for Producing Fortified Fresh Pasteurized Milk with an Extended Shelf Life. *Antioxidants*. 8: 255.
- **Pernodet G. 1984.** Le fromage. Edition: Lavoisier. Paris, France.pp, 219-248
- **Perry,jj., staley, jt., lory, s. (2004).** Bactéries gram-positives: firmicutes et actinobacteria. In: microbiologie. Dunodéd., paris. France. Pp. 471-50.
- **Pfeiler, e.a., klaenhammer, t.r. (2007).** The genomics of lactic acid bacteria. *Trends microbiol.* 15(12):546-53.
- **Polese J.-M, 2006,** La culture des plantes aromatiques. *Edition Artemis*, 93p
- **-Pougheon, S., et Goursaud, J. (2001).** Le lait caractéristique physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).
- **Quiberoni, a., rezaiki, l., el karoui, m., biswas, i., tailliez, p., and gruss, a. (2001).** distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *lactococcus lactis*. *Res microbiol.*152: 131-139.
- **Ramet J. P. (1985). Ramet J. P. (1987).** Cités par **Ramet (1994).**
- **Ramet J. P. (2003).** Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du lait de chamelle. Actes de l'Atelier International sur : "Lait de chamelle pour l'Afrique", 5-8 novembre, Niamey, Niger,93-99.
- **Ramet J.P. (1994).** Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie, 241-255.
- **Ramet J.P. (1997).** Les agents de la transformation du lait ; la présure et les enzymes coagulantes. Dans : Le fromage, Eck A. et Gillis J.-C. *Ed. Tech.& Doc.*, Lavoisier, Paris, 891p.
- **Reiter b.t., fryer t.f., pickering a., champan h.r., lawrence r.c. And sharpe m.e., 1967.** The effect of the microbial flora on the flavor and free fatty acid composition of cheddar cheese. *J. Dairy res.*, 34, 251772.
- **Ross, r. P., morgan s., hill c. (2002).** Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology* 79, 3-16.
- **Salvetti, e., torriani, s.,felis, ge. (2012).** The genus lactobacillus: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4(4): 217-226

- **Savoy de giori g. Et hebert m., 2001.** Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Methods in biotechnology*, vol. 14: food microbiol. Protocols. Humana press. Totowa. 197-202
- **Schleifer k.h. And kloos w.e., 1975.** A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci. *J. Clin. Microbiol.* 1, 337-8.
- **Senbagam, D., Gurusamy, R., & Senthilkumar, B.(2013).**Physical chemical and biological characterization of a new bacteriocin produced by *Bacillus cereus* NS02. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*,934-941
- **Serhan m, cailliez-grimal c, borges f, revol-junelles a.m, hosri c et fanni j. (2009).** Bacterial diversity of darfiyeh, a lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food microbiol.* 26.
- **Siboukeur A., Siboukeur O. 2012.** Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec le lait bovin. *Annales des Sciences et Technologie.* Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Siboukeur O. (2007).** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physicochimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique, El-Harrach-Alger, 135p.
- **Siboukeur O., Mati A. et Hesses B. (2005).** Amélioration de l'aptitude à la coagulation du lait cameline (*Camelus dromedarius*) : utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. *Cahiers Agricultures*, vol.14, n° 5, 473-478
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. et Knez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry.* 89: 191-198.
- **Soulama, S., Sanon H O., Meda R N T., Boussim J I. (2014).**Teneur en Tanins de ligneux fourrers de bourkina *faso.* *Afrique Science.*10(4):180-190.
- **Stadhouders j. And mulder h., 1958.** Fat hydrolysis and cheese flavor. Ii. Microorganisms involved in the hydrolysis of fat in the interior of the cheese. *Neth. Milk dairy j.*, 12, 23741.
- **Stahl-Biskup E., Sàez F, 2002,** Thyme: The genus *Thymus*. CRC Press, 346p
- **St-Gelais Daniel et Patrick Tirard-Collet., 2002. Chapitre 6 :** Fromage dans Sciences et Technologies du lait, transformation du lait par **Carole L. Vignola.** Edition Presses Internationales Polytechnique. Pp 348-415.603p.

- **Stiles, m.e. And holzapfel, w.h. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int j food microbiol* 36: 1-29.
- **Sultana, b., f. Anwar and m. Ashraf, 2009.** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.*, 14: 2167-2180.
- **Tabak ,S.,& Bensoltane, A.(2011).** L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. *Nature & Technologie*,06,71 – 79.
- **Tamert A., Latreche A.,Aouad L., (2017).** Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Extracts of *Thymus serpyllum* and *Thymus vulgaris* from the Mount of Tessala (Western Algeria).*Pharmacognosie*, **15**: 384-394.
- **Tamime, a.y., 2002.** Microbiology of starter cultures. In: dairy microbiology handbook (robinson r.k.). 3 eed., john wiley and sons, inc., new york. 261-3.
- **Tchamba, c. N. (2007).** Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au senegal : cas de la zone des niayes cheikh anta diop de dakar. Thèse doctorat: 109.
- **Thapa, n., pal, j., tamang, j. P. (2006).** Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the eastern himalayas. *International journal of food microbiology*, **107**: 33-38.
- **Tifourghi Hadjer, Z. A. I. D (2020).** Contribution d'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris*) contre *Aspergillus niger*.
- **Tili, M.L. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Thèse de Magister. Université Kasdi Merbah – Ouargla, pp 86.
- **Vandamme, p, b pot, m gillis, p de vos, k kersters, and j swings.** "polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics." *microbiol rev* 60 (1996): 407-438.
- **Vasiljevic, t., shah, n.p. (2008).** Probiotics from metchnikoff to bioactives.*international dairy journal* 18, 714 – 728.
- **Vos, p, et al. Bergey's manual of systematic bacteriology.** 2e. Vol. 3. New york, ny: springer-verlag, 2009.

- **Wong C. C., Li H. B., Cheng K. W. et Chen F., 2006.** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 97(4), 705-711
- **Zadi h., 1998.** Bactéries lactiques isolées de lait de camelus dromedarius : étude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de doctorat d'état. Université de constantine, algérie. 205.
- **Zairi A., Nour S., M'hamdi N., Bennani M., Bergaoui I., Mtiraoui A., ... et Trabelsi M., 2018.** Antioxidant, antimicrobial and the phenolic content of infusion, decoction and methanolic extracts of Thyme and Rosmarinus species. *Current pharmaceutical biotechnology*, 19(7), 590-599.
- **Zeghib A., (2013).** Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre Thymus. Thèse de doctorat en sciences, chimie organique, Université de Constantine 1, 2-10p.
- **Zhang h. Et cai y., 2014.** Lactic acid bacteria fundamentals and practice. Springer dordrecht heidelberg new york london p: 535.
- **Zhang, H., Wu, J., and Guo, X. (2016)** Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Sci. and Human Wellness* 5, 39-48
- **Zitouni Fifi, A. H.(2012).** Caractérisation morphologique et étude phytochimique de l'extrait des feuilles de trois variétés d'olivier olea europaea L. dans la région de Biskra.

