

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences alimentaires

Laboratoire science, Technologie Alimentaires et Développement Durable

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de master en

Spécialité : Nutrition et diététique humaine

Filière : Sciences alimentaires

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Thème :

Conservation biologique à l'aide des ferments lactiques des fruits et légumes

Présenté par : BEN MILOUD Donia TESOURI Fadoua Y.

Devant le jury

Oussadou Larbi	MAA	Université Blida1	Président
Hamzi Wahiba	MCB	Université Blida1	Examinatrice
Boudjema Nouara	MCA	Université Blida1	Promotrice

Année universitaire : 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
مَنْ كَانَ فِي شَيْءٍ مِنَ الْحَقِّ عَاقِبَةٌ
أَتَتْهُ مُجْرِبَاتُ الشَّيْطَانِ
فَعَبَّ وَتَوَلَّى وَرَأَى الْمُلُوكَ
عِندَ اللَّهِ مُجْرَبِينَ
وَمَنْ كَانَ فِي شَيْءٍ مِنَ الْحَقِّ
عَاقِبَةٌ أَتَتْهُ مُجْرِبَاتُ
الشَّيْطَانِ فَعَبَّ وَتَوَلَّى
وَرَأَى الْمُلُوكَ عِندَ اللَّهِ
مُجْرَبِينَ

١٤٣٨

Remerciements.

*En premier le lieu, je remercie **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous adressons notre reconnaissance et nos chaleureux remerciements à notre promotrice Madame **Boudjemaa Nouara**, qui nous a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail et pour ses conseils scientifiques judicieux, et surtout pour ses qualités humaines.*

*Nous remercions également Dr **Oussadou Larbi**, pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter de présider le jury d'évaluation et d'examiner ce mémoire, vos remarques ne feront qu'améliorer ce travail.*

*Nos remerciements les plus respectueux vont également à Madame **Hamzi Wahiba**, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail ; qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect et de notre profonde gratitude.*

Nous tenons à adresser, notre respect et nos vifs remerciements à toutes les personnes ayant apporté leur contribution, de près ou de loin à notre travail de recherche.....

Dédicace

Je dédie ce travail à

Mon père Mr. Ben miloud Karim Tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que Dieu te donne la santé et longue vie papa.

Ma mère Wahiba, Que ce travail soit pour toi le témoignage de mon infinie reconnaissance pour ton aide précieuse et toutes ces années de compréhension.

Mes frères Mouhamed et Ramzi, mes sources de joies.

Mes chères copines Amina et Samia; En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Mes cousines chères à mon cœur yasmine et Soumia, un grand merci pour le soutien et l'encouragement que vous m'avez donné pendant toute l'année.

A ma très chère amie Lina, t'es pour moi une sœur et l'une des amies sur qui je peux compter. Tu as toujours cru en moi et je tenais à t'en remercier pour ta présence et ton aide au quotidien. Je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

Madame Ben Azzouz Fella, qui m'a soutenu, encouragé, et m'a accompagné depuis toujours, Merci ma tante.

A mon binôme Fadoua d'avoir eu le courage d'achever ce travail.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Dounia

Dédicace

Je dédie ce travail à

Ma mère Nacera, qui illumine de tous son éclat ma vie, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse et ma chère grande mère Ouliya.

L'homme, ma précieuse offre du dieu, qui a veillé à me donner l'aide et m'encourager mon cher père TAYEB.

Mes adorables sœurs KHADIJA et MOROUJ et ma jumelle Rima qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

Mes oncles et mes autres tantes Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

Mes grands parents que dieu les garde de son vaste paradis

Sans oublier mon binôme Dounia pour son soutien moral, la patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Fadoua Yassamine

Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Bactéries lactiques

I.1. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques.....	03
I.2. Habitat.....	03
I.3. Classification phylogénétique.....	03
I.4. Caractéristiques des principaux genres.....	04
I.5. Bactéries lactiques en industrie alimentaire.....	06
I.6. Bactéries lactiques candidates idéales.....	06
I.6.1. En bio-préservation.....	06
I.6.2. Production de métabolites d'intérêts.....	06
I.6.2.1. Pouvoir texturant.....	07
I.6.2.2. Pouvoir acidifiant.....	07
I.6.2.3. Pouvoir aromatisant.....	08
I.6.2.4. Pouvoir antimicrobien.....	08
I.6.3. Bactéries lactiques comme probiotiques.....	08
I.7. Fermentation lactique des produits végétaux.....	10
I.8. Les fruits.....	10
I.9. Les légumes.....	13

Chapitre II : Partie expérimentale

1. Objectifs d'étude.....	16
2. Matériel.....	16
2.1. Provenance des échantillons utilisés.....	16
2.2. Matériel non biologique.....	16
3. Méthode.....	16
3.1. Préparation des échantillons	16
3.2. Isolement des bactéries lactiques.....	17
3.3. Purification des isolats.....	19
3.4. Conservation des isolats.....	20
4. Identification des bactéries lactiques.....	22
4.1. Caractérisation phénotypique.....	22
4.2. Caractérisation physiologique.....	23
4.3. Caractérisation biochimique.....	24
4.4. Etude d'un caractère technologique.....	25
5. Etude sensorielle.....	26
5.1. Introduction.....	26
5.2. Technique de préparation de brioche.....	26
5.3. Analyse sensorielle.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Résultats de l'identification des bactéries lactiques.....	28
1.1 Etude macroscopique.....	28
1.2. Etude microscopique.....	29
1.3. Tests biochimiques.....	32
1.3.1. Catalase et oxydase.....	32
1.3.2. Test mannitol-mobilité.....	32
1.3.3. Croissance à différentes températures.....	33
1.3.4. Thermorésistante des bactéries.....	34
1.4. Résultats d'antibiogramme.....	37
2. Résultats de l'étude sensorielle.....	38
3. Test hédonique.....	41
5. Discussion.....	41
Conclusion et perspectives.....	43
Références bibliographiques.....	45
Annexes	

Liste des abréviations

B.L	Bactérie lactique
G+C	Guanine+ Cytosine
AOC	Appellation d'origine contrôlée
ARNr	Acide Ribonucléique ribosomique
Hétéro	hétérogène
Homo	homogène
min	minute
ml	millilitre
MRS	Man-Rogosa et Sharp
NaCl	Chlorure de sodium
pH	potentiel Hydrogène
T°	Température
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
L	Lévogyres
EPS	Exopolysaccharides
CO₂	Dioxyde de carbone
G×	Le grandissement
S	Souche

Liste des figures

Figure 01: Echantillons utilisés pour la fermentation lactique a) Citrons ; b) Chou blanc et rouge ; c) Fraise.....	17
Figure 02: Préparation de la solution mère des échantillons fermentés pour les analyses.....	18
Figure 03: Création des conditions d'anaérobies.....	19
Figure 04: Protocole suivi pour l'isolement et l'identification des bactéries lactiques.....	22
Figure 05: Pomme de terre fermenté.....	26
Figure 06: Brioche à base de pomme de terre fermentée.....	27
Figure 07: Exemple de la fiche technique utilisée lors d'analyses sensorielles.....	28
Figure 08: Aspect des colonies des bactéries lactiques isolées sur Milieu MRS.....	29
Figure 09: Aspect des colonies des bactéries lactiques isolées sur Milieu M17.....	30
Figure 10: Observation microscopique des colonies de bactéries lactiques pures isolées de produit fermentés	32
Figure 11: Observation microscope optique (G×100).de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> isolée à partir des fraises fermentés.....	33
Figure 12 : Résultat du test oxydase.....	34
Figure 13 : Examens de croissance à différentes températures.....	35
Figure 14 : Examens de croissance à 60°C pendant 30 min.....	35
Figure 15 : Croissance de la première souche en différentes concentrations en NaCl.....	37

Figure 16 : Résultat d'antibiogramme de la troisième souche.....	38
Figure 17 : Pourcentage d'analyses en fonction de vue.....	39
Figure 18 : Pourcentage d'analyses en fonction d'odorat.....	40
Figure 19 : Pourcentage d'analyses en fonction du goût.....	40
Figure 20 : Pourcentage d'analyses en fonction du touche.....	41
Figure 21 : Pourcentage d'analyses en fonction d'ouïe.....	41

Liste des tableaux

Tableau I: Quelques applications des bactéries lactiques.....	06
Tableau II : Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques.....	09
Tableau III : Les valeurs nutritionnelles du citron pour 100g.....	11
Tableau IV : Les valeurs nutritionnelles des fraises.....	13
Tableau V : Valeurs nutritionnelles des choux blanc pour 100g.....	15
Tableau VI : Fruits et légumes utilisés pour la fermentation lactique.....	16
Tableau VII : Résultats de tests biochimiques des isolats étudiés.....	34
Tableau VIII : Résultats des examens de pré-identification des bactéries lactiques..	36

Résumé

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre très important d'aliments. Ces bactéries sont déjà reconnues par leur propriété de produire des substances antimicrobiennes et leur utilisation dans la fermentation et la bio-préservation des aliments et comme une alternative au traitement des anti-bio résistances des bactéries pathogènes.

Dans notre travail on s'est intéressé à isoler des bactéries lactiques à partir des fruits et légumes fermentés. Une bio-conservation a été appliquée par une lacto-fermentation des trois types de produits alimentaires (Fraise, Citron, Chou blanc et rouge) pour une durée d'un mois et demi. La présente étude a conduit à l'isolement et l'identification de six souches de bactéries lactiques.

Des tests phénotypiques préliminaires (Coloration de Gram ; test catalase ; oxydase ; température de croissance), biochimiques et physiologiques (type fermentaire, croissance à différentes concentrations de NaCl (1%,2%, 4% et 6,5%), croissance à différents pH (4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6), croissance à différentes températures (4°C, 37°C, 45°C), ainsi un seul test technologique ont été étudiés.

Ces derniers nous ont permis d'avoir de plusieurs isolats avec une prédominance pour les bacilles et quelques isolats ont été des coques appartenant à trois genres: *Lactobacillus* (74%), *Lactococcus* (25%), *Leuconstoc* (1%) avec l'apparition d'une turbidité lors de l'examen de la thermorésistance à 65°C ce qui signifie la présence de *Pediococcus* aussi.

Mots clés : Bactéries lactiques ; Produits végétaux fermentés ; Bio-conservation ; Fermentation ; *Lactobacillus*.

Abstract

Lactic acid bacteria are useful micro-organisms for humans allowing them to manufacture and preserve a very large number of foods. These bacteria are already recognised by their property of producing antimicrobial substances and their use in fermentation and bio-preservation of food and as an alternative to the treatment of anti-bio resistance of pathogenic bacteria.

This work is being carried out to isolate lactic acid bacteria from fermented fruits and vegetables. Three samples of fruit and vegetable were chosen(Strawberry, Lemon, White and red cabbage), which were fermented for a period of one month and half(From April 13th to May 25th). The present study took us to the isolation and identification of six strains of lactic acid bacteria.

Preliminary phenotypic characterization tests(Gram strain, Catalase and oxydase test, Growth temperature), biochemical and physiological tests too (fermentation type, growth at different concentrations of NaCl(1%, 2%, 4% and 6,5%), growth at different pH(4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6), growth at different temperature(4°C, 37°C, 45°C), including to one technological character were studied.

These tests have allowed us to have several isolates with a predominance for bacills and some isolates were cocci are belonged to three genera : *Lactobacillus* (74%), *Lactococcus* (25%), *Leuconstoc* (1%), with the appearance of turbidity during the examination of the heat resistant at 65°C which means the presence of *Pediococcus*.

Key words : Lactic acid bacteria ; fermented plants products ; Bioconservation ; fermentation ; Lactobacillus.

ملخص

تعد بكتيريا حمض اللاكتيك كائنات دقيقة مفيدة للإنسان ، مما يسمح له بصنع وتخزين عدد كبير جداً من الأطعمة. تم التعرف على هذه البكتيريا بالفعل من خلال خصائصها في إنتاج المواد المضادة للميكروبات واستخدامها في التخمير والحفظ البيولوجي للأغذية وكبديل لعلاج المقاومة الحيوية للبكتيريا المسببة للأمراض.

في عملنا ، قمنا بعزل بكتيريا حمض اللاكتيك عن الفواكه والخضروات المخمرة. تم تطبيق الحفظ البيولوجي عن طريق تخمير ثلاثة أنواع من المنتجات الغذائية (الفراولة والليمون والملفوف الأبيض والأحمر) لمدة شهر و نصف. أدت الدراسة الحالية إلى عزل وتعريف ستة سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك.

قمنا بإجراء اختبارات مظهرية أولية مثل (صبغة جرام ، اختبار الكاتالاز ، أوكسيديز ، درجة حرارة النمو) بالإضافة إلى اختبارات بيوكيميائية و فيزيولوجية (نوع التخمير ، النمو بتركيزات مختلفة من كلوريد الصوديوم (1% ، 2% ، 4% ، و 6.5%) ، النمو عند درجة حموضة مختلفة (4.4 ؛ 4.9 ؛ 9 ؛ 9.6) ، النمو عند درجات حرارة مختلفة (4 درجات مئوية ، 37 درجة مئوية ، 45 درجة مئوية) ، و أيضاً تمت دراسة اختبار تكنولوجي واحد فقط.

سمح لنا هذا الأخير بالحصول على عدة عزلات مع غلبة للعصيات وكانت بعض العزلات عبارة عن مكورات تنتمي إلى ثلاثة أجناس: لاكتوباسيلوس (74%) ، لاكتوكوكوس (25%) ، لوكونستوك (1%) مع عكارة المظهر عند فحص مقاومة الحرارة عند 65 درجة مئوية مما يعني وجود بيبديوكوكوس أيضاً.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ؛ منتجات نباتية مخمرة؛ الحفظ البيولوجي. التخمير. لاكتوباسيلوس.



Introduction générale

Introduction générale

Introduction

Les êtres humains sont connus par leur forte consommation des produits alimentaires industrialisés, ces derniers conduisent à plusieurs maladies métaboliques telles que le diabète, les maladies cardio-vasculaires, ces maladies résultent de l'exposition au stress oxydant, au tabac, à la sédentarité, à la mal nutrition (**Arts et Hollman, 2005**).

Pour réduire l'incidence de ces maladies, la consommation des fruits et légumes est fortement conseillé, ces derniers jouent un rôle majeur dans le développement du corps en raison de leur haute valeur nutritive, puisque ils apportent dans notre alimentation quotidienne des fibres, des vitamines, des minéraux, des carbohydrates et surtout en antioxydants (**Zhang et al., 2019**).

La plupart des produits végétaux que nous consommons sont transformés, en effet après récolte ces dernières se décomposent rapidement, à cause de la présence des micro-organismes et des enzymes. Donc leur durée de conservation étant limitée et afin de limiter les pertes, les fruits et les légumes sont très souvent transformés Les produits végétaux sont généralement saisonniers et s'abîment rapidement, pour les disposer tout au long de l'année, certaines méthodes de conservation ont été développées permettant de prolonger la durée de stockage de ces produits, de les conserver notamment le séchage, le blanchiment, la pasteurisation et le froid (**Fessard, 2017**).

Ces derniers sont des procédés impliquant une forte montée en température provoquent dans la majorité des cas une diminution de la teneur en composés hydrosolubles comme les vitamines et les composés phénoliques plus une diminution des capacités d'antioxydants, Une diminution des capacités antioxydantes accompagne ainsi très souvent l'utilisation de ces procédés. D'autres procédés de transformation n'ont pas cet effet : c'est le cas de la fermentation lactique. (**Fitz et Kuipers, 2003**).

La fermentation lactique est un moyen de bio-conservation. Elle présente plusieurs avantages dont l'augmentation des propriétés nutritionnelles des aliments, plus particulièrement celles de fruits et légumes (**Ganou et al., 1993**).

Introduction générale

Elle se considère comme un procédé au cours duquel les sucres de l'aliment sont transformés par les bactéries lactiques les agents responsables de cette fermentation, en acides organiques le plus connu est l'acide lactique. La production de ces acides résulte un abaissement du pH du milieu de fermentation. L'acidité obtenue stabilise le produit et inhibe les micro-organismes responsables d'altérations et les microorganismes pathogènes (**Neikell, 2017**). Le produit fermenté obtenu est donc mieux conservé et moins riche en sucre gardant l'ensemble de ses bénéfices nutritionnels, et présenterait un intérêt certain dans la lutte contre le diabète et l'obésité (**Fessard, 2017**), et présenterait un intérêt certain dans la lutte contre le diabète et l'obésité. Plusieurs études réalisées sur des fruits et des légumes, ont montré que la fermentation préservait les propriétés antioxydantes voire les augmentait (**Di Cagno et al., 2013 ; Leroy et al., 2004**).

Dans ce contexte, la présente étude s'est orientée. Pour ce faire des essais de fermentation lactique sont mis en place afin d'identifier les bactéries lactiques responsable isolées de certains fruits et légumes provenant de la région de Blida et Aïn-defla. Dans le but d'évaluer l'appréciation des produits fermentés par le consommateur, une analyse sensorielle a aussi fait l'objet de cette présente étude.



Revue Bibliographique

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

I. Bactéries lactiques

I.1. Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques (BL) forment un groupe de cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophe et chimio-organotrophe, elles sont le plus souvent immobiles, catalase négative (**Tailliez, 2001**). Ce sont des bactéries à Gram positif (**Ray, 2021**). Elles sont en forme de cocci ou bâtonnets, asporulés et produisent de l'acide lactique comme principal produit final au cours de la fermentation des hydrates de carbone (**Hayek et Ibrahim, 2013**).

Elles ont un métabolisme anaérobie facultatif et tolèrent l'oxygène dans une certaine mesure (**Savadoga, 2011**). Elles sont acido-tolérantes et capable de croître à des températures comprises entre 10° et 45°C (**Toqeer et al., 2006 ; Declomensnil, 2014**). Elles permettent, de par leur métabolisme d'augmenter la durée de conservation d'origine des denrées et leur confèrent une saveur et une texture différente (**Badis et al., 2005**).

I.2. Habitat

Les B.L sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat, elles accompagnent l'activité humaine, au quotidien en temps que bactéries de la flore commensale, intestinale, ou de la flore alimentaire (**Matamors., 2008**), ainsi que dans le sol et l'eau (**Liu et al., 2014**).

Elles sont présentes dans les produits laitiers, carnés, végétaux, et céréalières (**Klaenhammer et al., 2005**). Elles se développent aussi dans le vin (**Stiles et Holzapfel, 1997 ; Klaenhammer et al., 2005**).

I.3. Classification phylogénétique:

La classification des bactéries lactiques proposée par (**Stiles et Holzapfel., 1997**) comporte 4 groupes phylogénétiques :

- Le premier est composé des genres: *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Carnobacterium*, *Lactosphaera* et *Aerococcus*, genres isolés de différents Habitats, ainsi. *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, bactéries intestinales (**Aguirre et Collins., 1993**).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

- Le deuxième groupe est constitué des genres *Streptococcus* et *Lactococcus* qui sont phylogénétiquement proches (**Schleifer et al., 1985**) *Lactococcus lactis* est une bactérie très utilisée en fermentation fromagère, ainsi *S. thermophilus* est la seule espèce du genre *Streptococcus* à être utilisée comme ferment dans l'industrie laitière Elle est notamment utilisée pour la production de yaourts ou de fromage ,en co- culuture avec d'autres BL.(**Jameh, 2012**).
- Le troisième groupe est formé des genres *Oenococcus*, *Leuconostoc* et *Weissella* Il comporte des bactéries importantes dans l'industrie agroalimentaire pour la fabrication du vin et de la choucroute.(**Collins et al., 1993**).
- Le quatrième groupe phylogénétique est constitué des genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*, les trois genres *Bifidobacterium*, *Brevibacterium* et *Propionibacterium* Ce sont des bactéries à Gram positif dont le pourcentage en GC est supérieur à 50% (phylum des *Actinobacteria*), alors que les bactéries lactiques typiques ont une teneur en GC inférieure à 50% (phylum des *Firmicutes*) (**Holzappel et al., 2001**).

. I.4. Caractéristiques des principaux genres

- **Le genre *Lactobacillus***

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme batonnet court ou légèrement flexueux. Elles sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques (**Hammes et Vogel, 1995**).

les espèces de *Lactobacillus* utilisées pour la fermentation des céréales et comme Starter pour la production des produits laitiers fermentés , tel le yaourt qui résulte de la fermentation du lactose dans le lait par l'association de *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* et *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* pour libérer l'acide lactique (**Glory et Etienne, 2021**), ce dernier inhibe la croissance des micro-organismes indésirables (**Maciel, 2003**). Cette inhibition augmente la qualité nutritive et sanitaire du yaourt ainsi que sa durée de conservation. (**Aslam, 2010**).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

- **Le genre *Lactococcus***

Le genre *Lactococcus* est de Gram positif, en forme de coques avec un métabolisme homo-fermentaire produisant exclusivement de l'acide lactique (L+) Elles ont un optimum de croissance voisin de 30°C et ne poussent pas à pH 9,6 ou en présence de 6,5 % de NaCl Excepté l'espèce *Lactococcus garvieae* (ALOMAR, 2007). Les espèces les plus utilisées sont *Lactococcus lactis subsp.cremoris* et *Lactococcus lactis subsp.lactis* qui jouent un rôle majeur dans l'acidification des fromages par production d'acide lactique (Li et al., 2020). Elles ont une activité protéolytique et contribuent à la texture par production d'exopolysaccharides et à la saveur par production de composés aromatiques. (Mc Auliffe.,2018).

- **Le genre *Leuconostoc***

Elles se trouvent sur les légumes dans l'ensilage et les produits alimentaires fermentés tel que le fromage blanc, la crème aigre le kéfir, la choucroute et le kimchi (Rezac et al., 2018). Elles produisent de l'acide lactique (Garvie, 1986) et des polysaccharides qui entraînent une amélioration de la texture des produits fermentés (Poulsen et al., 2020).

- **Le genre *Streptococcus***

L'espèce la plus reconnue est *Streptococcus thermophilus* qui est perçue comme une bactérie alimentaire (Delorme et al., 2010).

- **Le genre *Bifidobacterium***

Les bifidobactéries sont des bactéries Gram positives, anaérobies, hétéro-fermentaires non mobiles, non-sporulantes (Mattarelli, 2001) les bifidobactéries sont ajoutées en grand nombre comme bactéries vivantes dans de nombreuses préparations alimentaires avec diverses actions liées à la santé. (SAVADOGO et TRAORE, 2011).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

I.5. Bactéries lactiques en industrie alimentaire

Les B.L sont utilisées dans les procédés de fermentation ,ainsi pour la bio-préservation ,elles sont considérés comme non nuisibles à la consommation humaine(Fessard et al., 2017) ,elles sont impliquées dans la fabrication de plusieurs denrées alimentaires comme les fromages , charcuteries ,boissons fermentés ,légumes fermentés(Badis et al., 2005). Leur utilisation assure aux aliments des caractéristiques bien particulières d'arôme et de texture, mais aussi une bonne sécurité alimentaire (Desmazeaud, 1996). (Tableau I).

Tableau I : Quelques applications des bactéries lactiques

Bactéries	Produits	Références
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp, mesenterides</i> ATCC 8293	Fermentation d'aliment : choucroute, des légumes, production de dextrane.	Kabli et al., (2020)
<i>Streptococcus thermophilus</i> LMC 18311	Fermentation du fromage et du yaourt.	Zhiyuan et al., (2021)
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp, <i>sakei</i> 23 K	Conservation des aliments, fermentation de la viande	Settier-Ramirez et al., (2021)
<i>Lactobacillus plantarium</i> WCFSI	Conservation des aliments, tels que le lait, la viande et les végétaux, probiotique	Zhou et al., (2021)
<i>Lactobacillus brevis</i> ATCC 367	Ferment de l'ensilage, levain, fermentation de la bière.	Moreno-Arribas et Lonvaud-Funnel, (1999)
<i>Lactobacillus casei</i> BL23	Probiotique, fermentation du lait, la flaveur des fromages	Merghni et al., (2017)

I.6. Les Bactéries lactiques candidats idéales

I.6.1 En bio-préservation

La bio-préservation ou bio-conservation est une méthode de conservation faisant appel à des micro-organismes ou à des "composés naturels". (Garry et al., 2008), ces derniers sont sélectionnées par leur aptitude à inhiber le développement des germes indésirables (Leroi, 2009). La bio-conservation permet non seulement de maîtriser la

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

croissance de flore pathogène ou d'altération, mais également de préserver les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit tout au long de sa durée de vie. (Rodgers, 2001 ; Garry *et al.*, 2008; Makhloufi, 2011 ; Leroi, 2014).

1.6.2. Production de métabolites d'intérêt

Les bactéries lactiques contribuent à la bio-préservation en recouvrant les propriétés suivantes : activité acidifiante, propriétés enzymatiques, production de peroxyde et des exopolysaccharides, des acides organiques et les bactériocines. (Belyagoubi, 2014).

1.6.2.1. Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides peuvent provoquer des changements rhéologiques souhaitables dans l'aliment tel qu'une augmentation de la viscosité ,réduction de la synérèse et une amélioration de la texture (Moradi *et al.*, 2021), les genres les plus couramment rencontrés producteurs d'EPS *Lactobacillus*,*Lactococcus*,*Leuconstoc*,*Streptococcus* et *Pediococcus* (Angelin et Kavitha , 2020). L'utilisation des EPS produits par les souches *Lactococcus lactis ssp.cremoris* est très promotteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Ruas-Madiedo *et al.*, 2005).

1.6.2.2. Pouvoir acidifiant

La fonction acidifiante se manifeste par la production d'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne,cette fonction est la plus recherché des bactéries lactiques utilisés en industries alimentaires(Monnet *et al.*, 2008).Ses conséquences d'ordre physico-chimiques et microbiologiques seront :

L'Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés.(Béal *et al.*, 2008).et abaissement progressif du PH du milieu de culture et des matrices alimentaires (Piard, 1991),Ce qui conduit à l'inhibition de la croissance des flores pathogènes tell *Listeria monocytogenes*, des *pseudomonas*,et *Esherichia coli* (Desmazeaud, 1996).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

1.6.2.3. Pouvoir aromatisant

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques, la plupart de ces composés sont issus du métabolisme de citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**Tamime, 2002**). Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration de laits fermentés, fromages frais, crèmes et beurres, dont l'arôme principal est liée à cette activité microbienne. (**Cholet, 2006**).

1.6.2.4. Pouvoir antimicrobien

Les bactéries lactiques, selon les souches peuvent produire une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bio-conservation des aliments. (**Liu, 2003**), comme les acides organiques, le CO₂, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines, ces métabolites jouent un rôle dans la compétitivité des bactéries lactiques en perturbant la croissance des autres microorganismes vivant dans les mêmes écosystèmes. (**Al kassa et al., 2015**).

Les bactériocines produites par les B.L sont des substances antimicrobiens de poids moléculaire variable, elles ont des atouts indéniables pour représenter une technologie douce de préservation des aliments (**Dortu et Thonart, 2009**)

L'utilisation des B.L dans la prévention de certaines maladies et le bien être des consommateurs semble tenir une place de plus en plus importante En raison de leur propriétés des probiotiques : Ces derniers sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils administrés en quantité adéquate (**Makhloufi, 2012**), produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium*. (**Bernier, 2010**). Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques (**Tableau n°II**).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

Tableau II : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (**Patterson, 2008**).

Effets intestinaux	Effets sur le système immunitaire	Autres effets
<p>Contrôle des troubles suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mauvaise digestion du lactose. • Diarrhée due aux rétrovirus. • Syndrome du côlon irritable. • Infection par <i>Helicobacter Pylori</i>. • Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle. • Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (colite ulcéreuse et maladie du Crohn). 	<ul style="list-style-type: none"> • Modulation immunitaire. • Réduction des réactions des risques d'infection par des agents pathogènes courants (<i>Salmonella shigella</i>). • Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation. 	<p>Réduction du risque de :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Maladies de voies urinaires. • Certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein). • Infection des voies respiratoires supérieures et infections connexes. • Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle.

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

I.7 Fermentation lactique des produits végétaux

Depuis des millénaires, l'homme est microbiologiste à son insu. Il transforme les aliments à l'aide des micro-organismes, sans connaître les principes théoriques de ces manipulations. Les bactéries lactiques sont utilisées pour conserver les aliments est apparu simultanément sur plusieurs continents, sans que les différentes civilisations ne soient en contact. C'est ainsi que dans presque toutes les cultures du monde on retrouve des aliments végétaux fermentés, c'est le cas du kimchi coréen, de la choucroute allemande, du miso japonais, du tempeh indonésien, de l'injera éthiopien et de l'ayran turc (Neikell, 2017). Ces derniers sont obtenus par la lacto-fermentation qui est le meilleur mode de conservation (Bousmaha et al., 2006), elle connaît actuellement un regain d'intérêt à cause de ses avantages nutritionnels et technologiques (Ganou-parfait et al., 1993).

I-8 Les fruits

Un fruit c'est un aliment végétal plus ou moins sucré, généralement consommé en dessert, cette définition est à distinguer de la définition botanique car bien que certaines fruits dans le sens courant soient effectivement des fruits dans le sens botanique, ce n'est pas toujours le cas et vice-versa. Ainsi, du point de vue botanique, un fruit est la structure porteuse de graines dans les plantes à fleurs ce qui est caractéristique des Angiospermes (Keopaseuth et al., 2014).

Les fruits devraient occuper une place primordial dans notre alimentation, car ils sont riches en glucides simples, fournissant rapidement de l'énergie à l'organisme, ils sont aussi très riches en eau, sels minéraux, oligo-éléments, ils permettent de couvrir une partie de besoins de l'organisme en fer, calcium ou encore magnésium, ils contiennent aussi diverses vitamines, dont le rôle de protection générale de l'organisme est chaque jour confirmé (Dupin et al., 1992).

➤ Exemple des fruits étudiés

- *Le citron*

Le citron est le fruit du citronnier (*Citrus limon*), c'est un agrume appartenant à la famille des Rutaceae. Il est connu surtout par sa richesse en vitamine C, la valeur

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

pour 100g de ce fruit permet en effet de couvrir un tiers des besoins quotidiens (Débuiguine et Couplan, 2008) (Tableau n°III).

Tableau III : Valeurs nutritionnelles du citron pour 100g (Minh Tu et al., 2002 ; Chutia et al., 2009).

Valeur pour 100g	Citron frais
eau	88,98g
fibres	2,8g
Valeur énergétique	29kcal
protéines	0.70g
lipides	0.30g
glucides	2,50g
calcium	25mg
fer	0,6mg
magnésium	16mg
phosphore	18mg
potassium	153mg
sodium	4mg
Vitamine C	53mg
Vitamine B1	0,05mg
Vitamine B2	0,020mg
Vitamine B3	0,20mg
Vitamine B5	0,23mg
Vitamine B6	0,080mg
Vitamine E	0,80mg

Le citron est un fruit acide, contenant des sucres simples en majorité et dans ces Conditions les bactéries lactiques trouvent un milieu favorable pour leur croissance (Sacchetti *et al.*, 2005). La fermentation du citron demeure traditionnelle et ce procédé mis en évidence permettra l'obtention de citrons de bonne qualité hygiénique et une durée de conservation jusqu'à un an (Desmazeaud, 1996).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

- **La fraise**

(*Fragaria x ananassa*), sont des plantes herbacées appartient à la famille des Rosacées (**da Silva Pinto et al., 2008**). Elle est considérée comme un fruit mous périssables présentant une durée de conservation post-récolte extrêmement courte, en raison de la faible résistance mécanique et de la sensibilité élevée à l'attaque des pathogènes. Ce fruit est très saisonnier et sa disponibilité est très étroite dans l'année (**Giampieri et al., 2012**).

Comme tous les fruits rouges, la fraise cache dans sa chair juteuse de nombreux éléments nutritifs aux multiples bienfaits santé (**Souci et al., 1981**). Ces valeurs nutritionnelles et caloriques sont apportés par le tableau n°IV.

Tableau VI : Les valeurs nutritionnelles des fraises (**Tonelli et Gallouin, 2013**)

Nutriments	Teneur moyenne
Energie	38,6 kcal
Eau	90,3 g
Protéines	0,63 g
Glucides	6,03 g
Lipides	< 0,5 g
Sucres	5,6 g
Fructose	3,3 g
Glucose	2,3 g
Fibres alimentaires	3,8 g
Calcium	18 mg
Chlorure	< 20µg
Cuivre	0,02 mg
Magnésium	12 mg
Manganèse	0,26 mg
Phosphore	23 mg

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

Potassium	140 mg
Sélénium	<20 µg
Zinc	0,11 mg
Beta –Carotène	< 5 µg
Vitamine C	54 mg
Vitamine B1 et B2	< 0,015 mg
Vitamine B3	0,21 mg
Vitamine B5	0,13 mg
Vitamine B6	0,04 mg
Vitamine B9	98,9 µg

I-9 Les légumes

Le légume est la partie d'une plante herbacée qui se consomme cette partie peut être les graines, les feuilles, les fruits, les tiges ou les racines pour l'OAC. En botanique le terme légume désigne le fruit des légumineuses, c'est-à-dire la gousse. Or, les légumes peuvent être classés en différentes catégories: Les légumes-racines (carottes, navets, betterave); Les légumes-fruits (concombres, olives, tomates,), et Les légumes-feuilles (chou, brocoli, épinard) (**Keopaseuth et al., 2008**).

Un apport important d'oligoéléments: le potassium et le calcium (surtout dans les Choux), du magnésium, du fer et du cuivre (légumes à feuilles), du soufre et de nombreuses autres matières minérales. Les légumes sont riches en vitamines hydrosolubles : vitamine C, provitamine A ou bêta-carotène et vitamines du groupe B, ils sont riches aussi en fibres qui se composent surtout de cellulose, d'hémicellulose et de matières pectiques (**Ciquel, 1995**).

➤ Exemple des légumes étudiés

- **Le chou blanc**

appartenant au genre *Brassica* et à la famille des Brassicacées Il s'agit d'une plante crucifère dont les feuilles forment une tête compacte, Le chou blanc peut être transformé en choucroute à base d'une conservation par la fermentation lactique qui dure jusqu'à 3 mois (**Al-Shehbaz et al., 2006**).

Le chou blanc un légume à haute valeur nutritive (**Tableau n°V**).

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

Tableau V : Valeurs nutritionnelles des choux blanc pour 100g (Samec et al., 2017).

Pour 100 g de chou blanc :

Nutriments	Teneur moyenne
Energie	36,5kcal
Eau	90 g
Protéines	1,38 g
Glucides	4,63 g
Fibres alimentaires	3,5 g
Calcium	59 mg
Chlorure	50 mg
Cuivre	0,02 mg
Fer	0,3 mg
Iode	< 20 µg
Magnésium	11 mg
Manganèse	0,1 mg
Phosphore	33 mg
Potassium	240 mg
Sélénium	20 µg
Sodium	13 mg
Zinc	0,16 mg
Beta-Carotène	< 5µg
Vitamine E	< 0,08 mg
Vitamine K1	9,6 µg
Vitamine C	8,88 mg
Vitamine B1	0,04 mg
Vitamine B2	< 0,01 mg
Vitamine B3	0,2 mg
Vitamine B5	0,18 mg
Vitamine B6	0,17 mg
Vitamine B9	69,6 µg

- **Chou rouge**

(*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) est un légume feuillu de la famille des crucifères ,ils appartient à la grande famille des choux dits *Cabus* ,et se reconnaît entre mille grâce à sa couleur violette intense !une couleur qui lui vient de sa teneur unique en pigments anthocyaniques bleus et rouges, de taille petite à moyenne, il a un aspect lisse et brillant très appréciable lorsqu'il est bien frais (Williams et al., 2013), Ce légume a une excellente teneur en nutriments qui sont apportés par le tableau n°VI.

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

Tableau VI : Les valeurs nutritionnelles pour 100g de chou rouge
(Ghareaghajlou et *al.*, 2021).

Nutriments	Teneur moyenne
Eau	90,7 g
Protéines	1,34 g
Glucides	0,18 g
Fibres alimentaires	2,05 g
Calcium	44,8 mg
Cuivre	0,024 mg
Fer	0,63 mg
Iode	0,1 µg
Magnésium	15 mg
Manganèse	0,22 mg
Phosphore	32,1 mg
Potassium	268 mg
Sélénium	1 µg
Sodium	18,5 mg
Zinc	0,21 mg
Beta-Carotène	670 µg
Vitamine E	0,09 mg
Vitamine C	58,5 mg
Vitamine B1	0,065 mg
Vitamine B2	0,06 mg
Vitamine B3	0,51 mg
Vitamine B5	0,24 mg
Vitamine B6	0,18 mg
Vitamine B9	32 µg

Le chou rouge se conserve plusieurs mois par la fermentation lactique, qui peut être transformé en choucroute, mais aussi en Kimchi coréen en rajoutant le chou blanc (Maatsch et *al.*, 2019).



Partie Expérimentale

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

1-Lieu de stage

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida de 24 Mai jusqu'à 22 juin 2021.

2- Objectifs d'étude :

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- Isolement des bactéries lactiques à partir des fruits et légumes fermentés.
- Etude de caractéristiques phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques des isolats.
- Incorporation d'un produit fermenté parmi les ingrédients de fabrication du pain.

3- Matériel

3-1 Provenance des échantillons utilisés

Nous avons utilisé des fruits (citron et fraise) et légume (chou blanc et rouge) pour des essais de fermentation lactique. Le tableau VII porte le type et l'origine des échantillons étudiés.

Tableau VII : Fruits et légumes pour la fermentation lactique

Echantillons	Fruits	Légumes
Type	Citrons Fraises	Chou blanc, Chou rouge
Lieu	Marché du Blida et Aïn-defla	

3-2 Matériel non biologique

Nous avons fait appel aux milieux de cultures (MRS ;M17 ; Sabouraud additionné de chloramphénicol) ; Verrerie et appareillage (voir annexe I).

4- Méthodes

4-1 Préparation des échantillons

Les échantillons de fruit et légume utilisés dans cette présente étude ont été lavés plusieurs fois puis coupés en quartier pour les citrons, en di pour les fraises, et en petits morceaux pour les choux. Ces derniers sont mis dans des bocaux en verre bien stérilisés tandis que les fraises dans des sacs sous-vide stérilisés (figure1).

Une saumure est préparée qui se constitue d'eau minérale et non du l'eau de robinet qui contient du chlore et tue les bactéries plus le sel non iodé à 3%.(Ganou et al., 1993).



Figure 01 : Echantillons utilisés pour la fermentation lactique a) Citrons ;b) Chou blanc et rouge ; c)Fraises.

Les échantillons sont fermentés pendant une durée de 1 mois et demi, à une température variant entre 24 et 28°C.

4-2 Isolement des bactéries lactiques

a) Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Une quantité de 25 g d'échantillons fermentés été mélangée dans 25 ml d'eau physiologique stérile dans un sac "Stomacher" sac de congélation stérile pendant 1 min, et puis par la suite nous avons mélangés tous ça avec 200 ml d'eau physiologique stérile pour avoir 250 ml de la solution mère.

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

Nous avons préparés des dilutions décimales jusqu'à 10^{-5} à partir de la solution mère. A l'aide d'une pipette pasteur stérile, un volume de 1 ml de la phase aqueuse est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile pour l'obtention de la dilution 10^{-1} . Ensuite 1ml de cette dernière est repris et additionné à 9ml d'eau physiologique pour réaliser la dilution 10^{-2} , et le processus a été répété ainsi jusqu'à l'obtention de la dernière dilution 10^{-5} (Idoui et *al.*, 2009). Le protocole réalisé est représenté par la figure suivante :

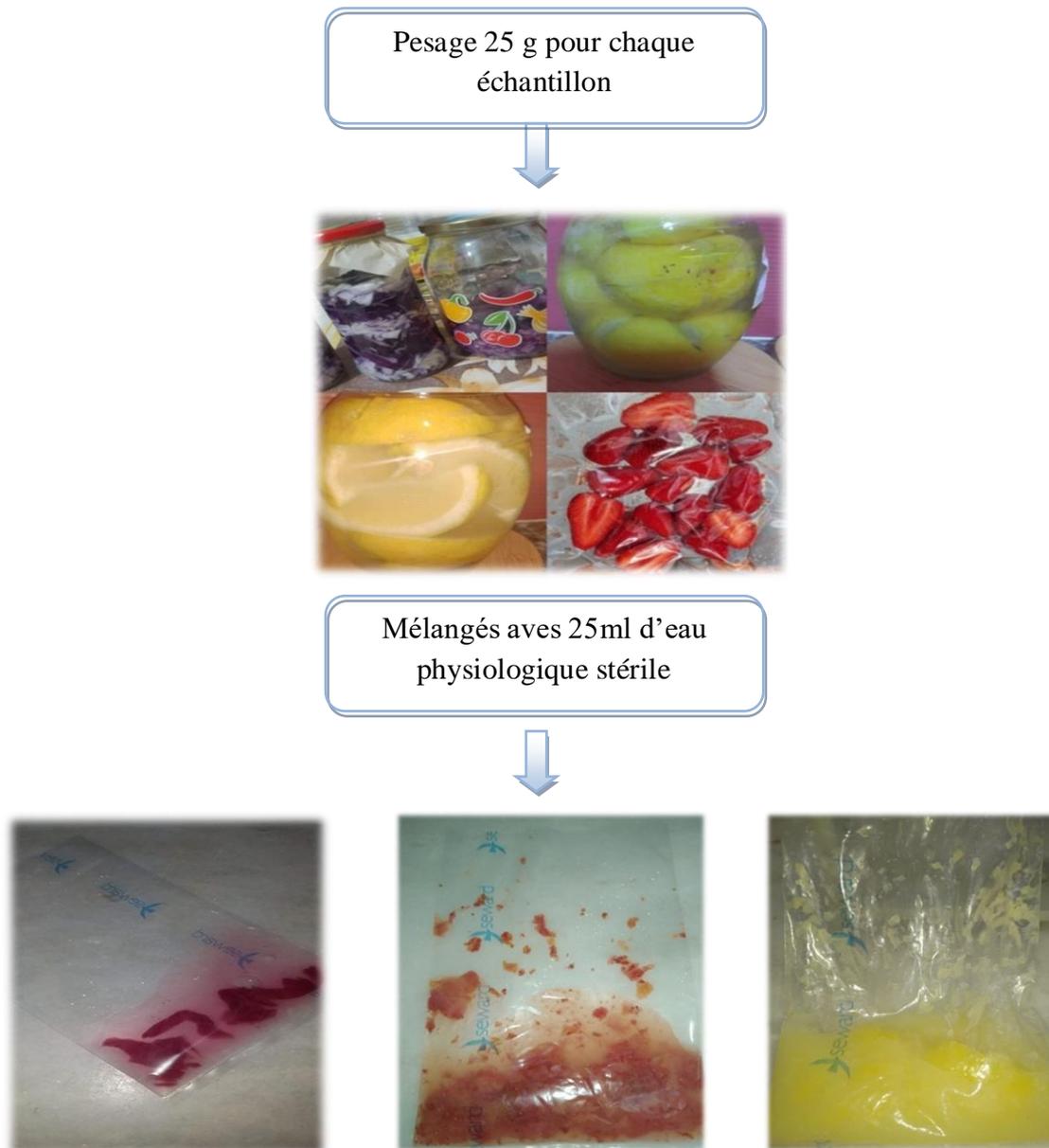


Figure 02 : préparation de la solution mère des échantillons fermentés pour les analyses

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

b) Isolement des bactéries lactiques

Après un mois et demi de fermentation, nous avons isolé les bactéries lactique à partir des échantillons fermentés sur gélose MRS, M17 préalablement coulées et solidifiées dans des boîtes de Pétri.

Un volume de 0.1 ml des dilutions (10^{-1} à 10^{-5}) a été prélevé et étalé à la surface des milieux (MRS, et M17). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h en condition d'anaérobies (jar) (Figure 03). Après incubation, les colonies obtenues ont été sélectionnées pour l'étude macroscopique et microscopique.

Seules les colonies qui présentent un aspect typique des colonies de bactéries lactiques, et qui sont Gram + et catalase négatif, sont prises en considération et ont servi pour le repiquage des tubes contenant le bouillon MRS ou M17 afin d'entamer leur purification (Nehal *et al.*, 2007).



Figure 03 : Création des conditions d'anaérobies.

4-3 Purification des isolats

La purification des souches isolées a été réalisée par repiquages alternés et successifs sur milieux MRS et M17 (gélose, bouillon) jusqu'à l'obtention de colonies bien séparé. La pureté des souches est révélée par la présence sur gélose de colonies homogènes ayant le même aspect, la même couleur, la même taille et la même forme. La pureté des isolats est estimée par observation microscopique après coloration de Gram et

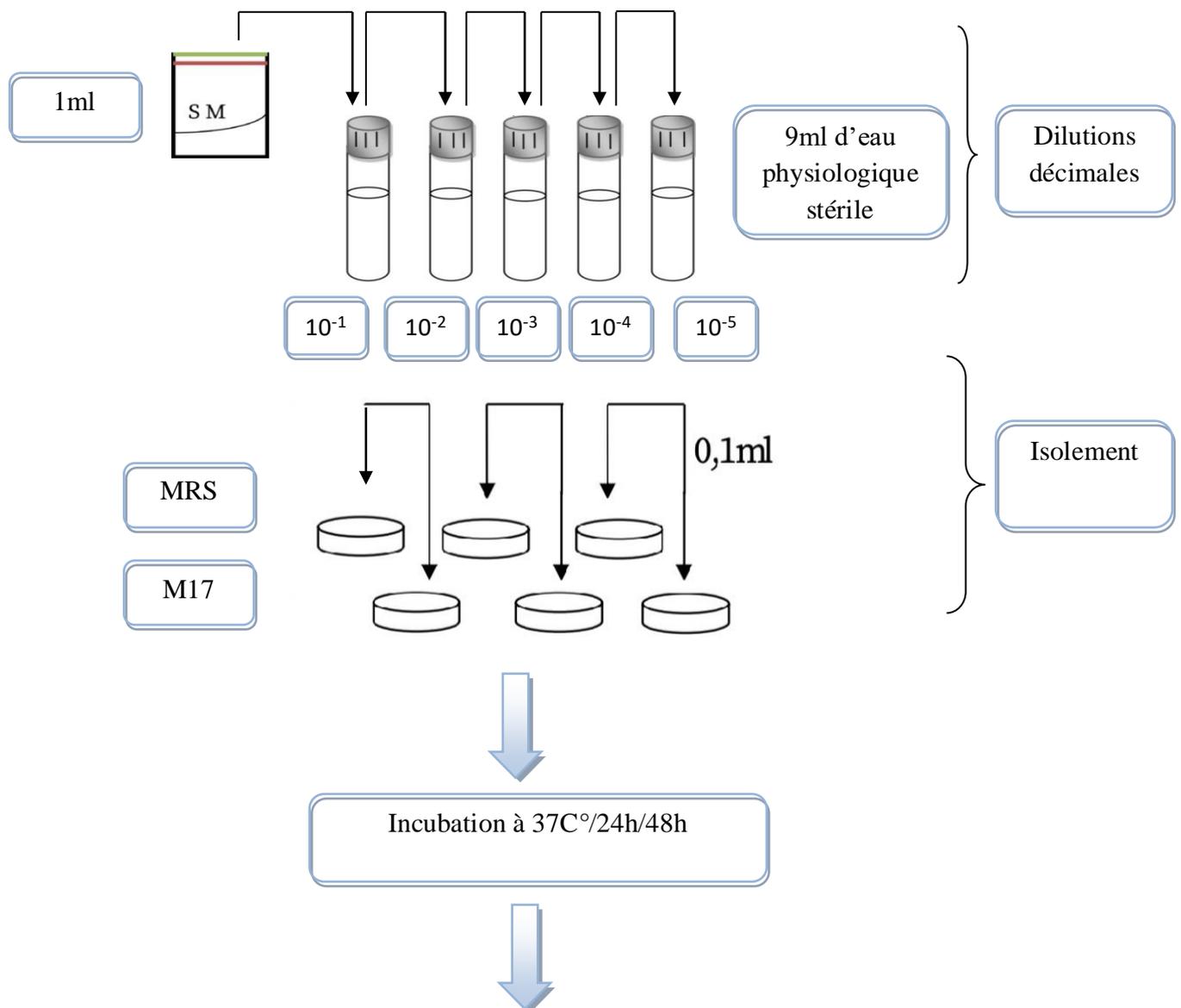
Chapitre 02 : Matériel et Méthode

l'aspect caractéristique de la culture de la culture des bactéries lactique en bouillon.(Guiraud, 2004 ; Heleni et al., 2006).

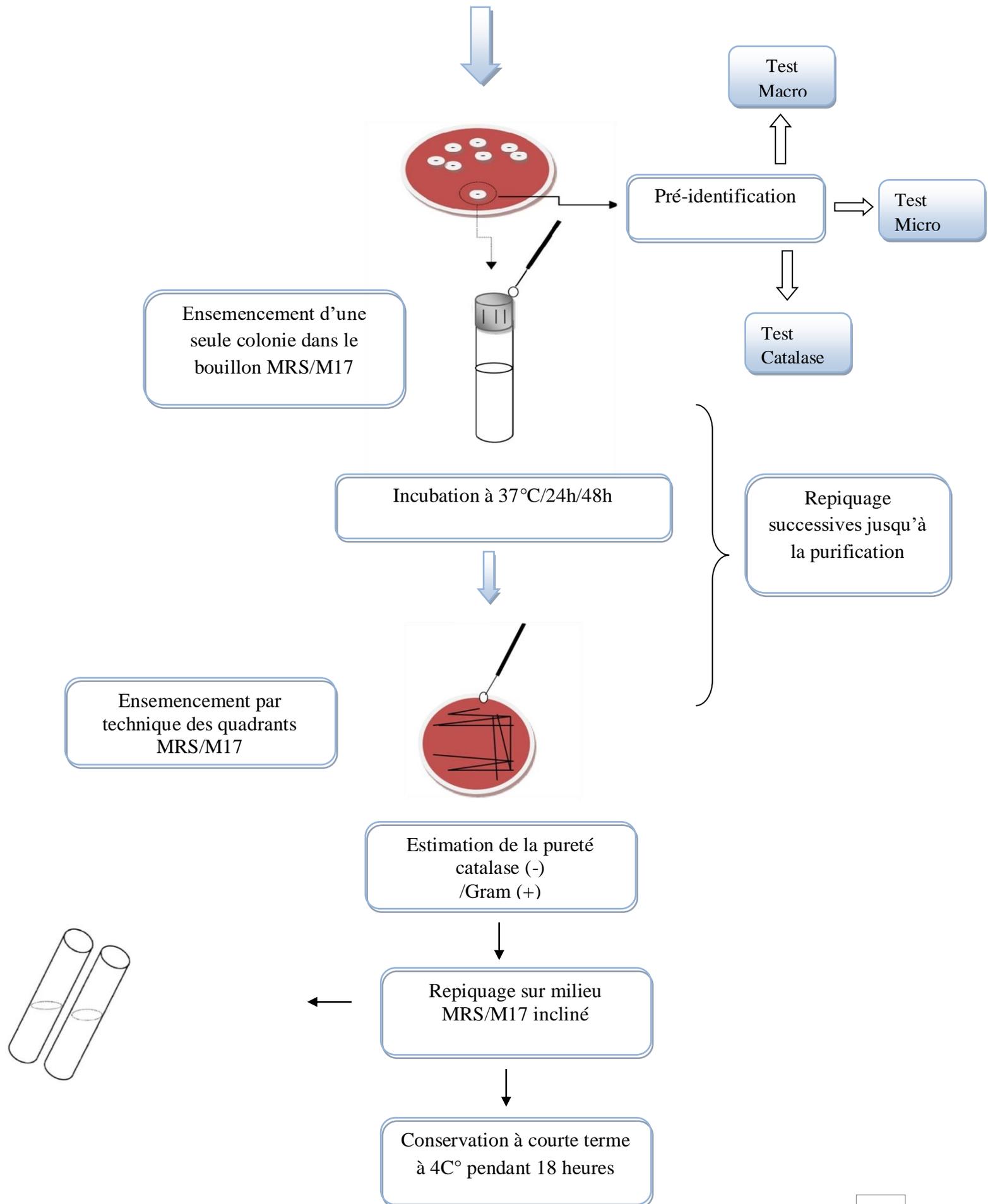
4-4 Conservation des isolats

Après purification, les souches sont conservées:

-de courte durée : les souches pures étaient ensemencés dans des tubes de gélose incliné, après l'incubation à 30C° pendant 18 heures, les tubes sont placés à +4C° (Saidi et al., 2004).



Chapitre 02 : Matériel et Méthode



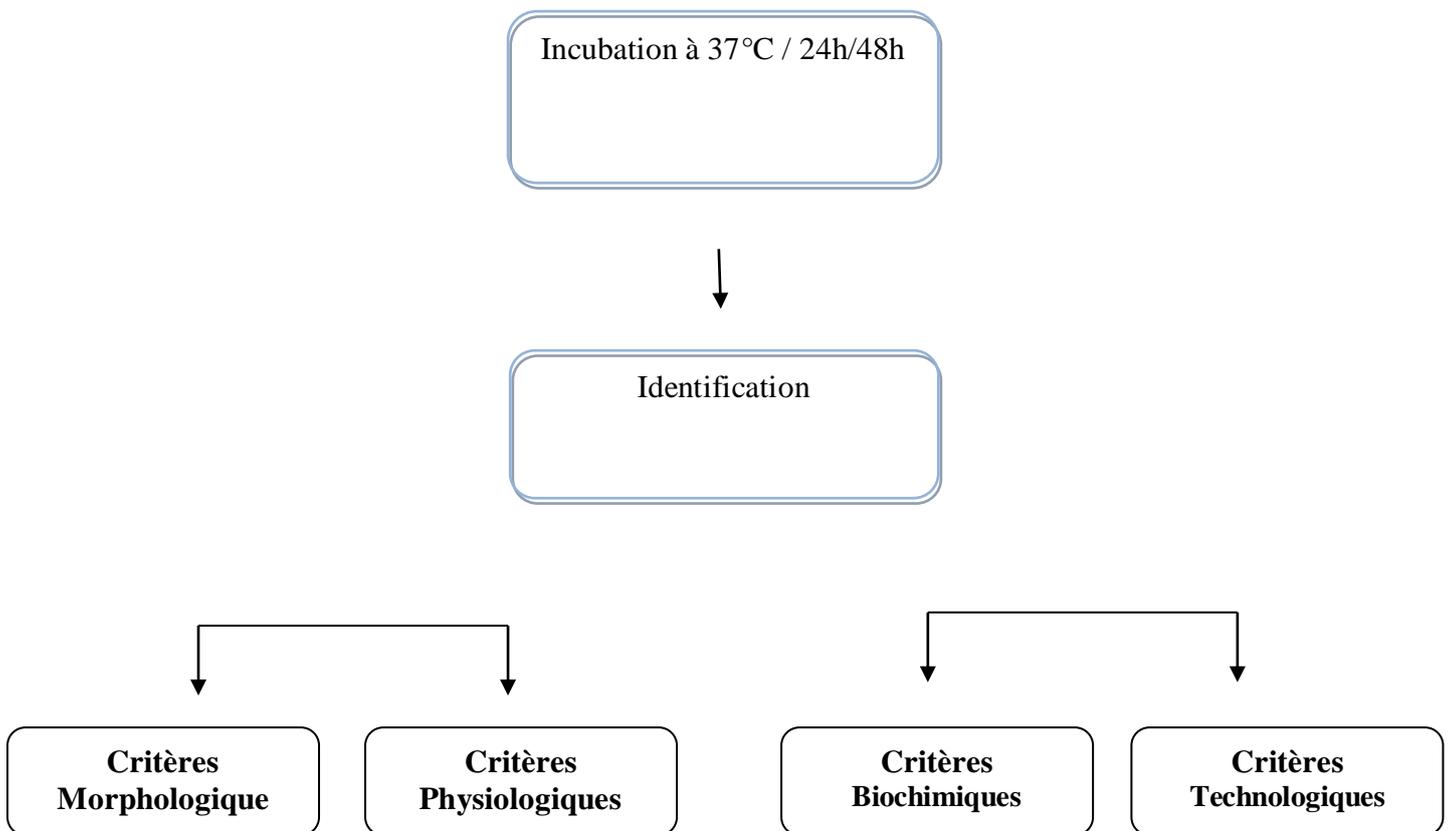


Figure 04 : Protocole suivi pour l'isolement et l'identification des bactéries lactiques.

5. Identification des bactéries lactiques

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères phénotypique, physiologique, biochimique et technologique (Larpen, 1997 ; Idoui et Karam, 2008).

5.1 Caractérisation phénotypique

Au cours de cette étude nous avons effectué un examen macroscopique et microscopique.

a) Examen macroscopique

Cet examen permet l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu (MRS, M17) solide ; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies sur milieu solide (Badis et al., 2005).

b) Examen microscopique

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS et M17, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut être une bactérie lactique. Ce test a été effectué sur des frottis et puis soumis à la coloration de Gram, celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positive, de celle à Gram négative, les bâtonnets, les coques et le mode de regroupement. La coloration de Gram est faite selon la technique suivante :

- Préparer et fixer sur une lame un frottis bactérien à la flamme d'un bec bunsen.
 - Recouvrir au violet de Gentiane pendant 1 minute. Rincer à l'eau distillée.
 - Ajouter du Lugol pendant 1 minute, puis rinçage à l'eau distillé.
 - Traiter à l'alcool pendant 30 secondes, rincer à l'eau.
 - Recolorer à la Fuschine pendant 1 minute, rinçage à l'eau puis séchage.
- (Camille, 2007).

L'observation des cellules bactériennes est réalisée au microscope optique ($G \times 100$) (Guiraud et Galzy, 1980).

5.2 Caractérisation physiologique

a) Croissance à différentes températures et thermorésistante:

Ce test est très important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles. Après inoculation du bouillon MRS (pH 6,8) par les cultures pures, les tubes sont incubés pendant une semaine pour des cultures à une température de 04°C, et de 24 h jusqu'à 48 h pour des cultures à des températures de 37 °C et 45°C. Le développement des souches est apprécié après la durée d'incubation, par comparaison avec un tube de milieu MRS liquide non ensemencé. L'apparition de trouble indique la croissance des souches "examen de la turbidité" (Larpent, 1996).

b) Thermorésistante des bactéries

Ce test est destiné aux coques, il permet de sélectionner des espèces thermorésistantes. Les souches à tester sont préalablement réparties dans des tubes de milieu MRS et M17. Ces tubes sont par la suite exposés à une température de 60°C

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

pendant 30 min, à partir de chaque tube traité nous avons ensemencé un nouveau tube de milieu MRS et M17 et porté à incubation à 30°C pendant 24 heures. Les bactéries thermorésistantes donneront sur ce milieu un trouble démontrant ainsi leur croissance (Guiraud, 2003).

c) Croissance en présence de différentes concentrations de NaCl

Généralement, les bactéries lactiques ne poussent pas dans des bouillons hyper salés, pour cela quatre milieux (MRS /M17) liquides contenant différentes concentration de NaCl : 1% de NaCl (1 g de NaCl par 100 ml de milieu), 2%, 3% et 6,5%, avec un pH de 6,5 sont généralement ensemencé par les souches testées selon Carr et al.(2002).Le développement des cultures est apprécié par comparaison avec un tube témoin non ensemencé, après incubation à 37°C pendant 24 à 72 heures(Badis et al., 2005).

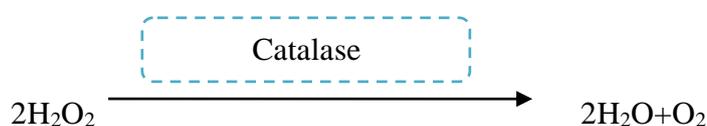
d) Croissance à pH (4,4 / 4,9 et 9 / 9,6)

Ce test se fait par ensemencement des bouillons MRS et, dont le pH est ajusté au différents pH 4,4 /4,9 et 9/9,6.La croissance des bactéries est appréciée par l'apparition d'un trouble dans les tubes (Guessas et al., 2006)

5.3 Caractérisation biochimiques

a) Test de la catalase

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase. Celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



Le test consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, dans laquelle sera dissocié un petit prélèvement de la colonie, la souche examinée est dite catalase positive si un dégagement gazeux est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme catalase (Marchal et al., 1991).

b) Test d'oxydase

La recherche de cette enzyme consiste à déposer dans un tube à hémolyse, un disque

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

oxydase et l'inhiber avec une goutte d'eau distillée. Ensuite, prélever une partie de la colonie à étudier et l'étaler sur le disque. Après environ 10 minutes aucune couleur s'apparaît sur le disque: test oxydase négatif (**Camille, 2007**).

c) Type fermentaire

Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé. Il consiste à mettre en évidence la formation de CO₂ qui est piégé dans une cloche de Durham, en milieu MRS (pour les bacilles) et M17 (pour les coques). Ces deux milieux sont dépourvus du citrate. Le CO₂ dégagé par les bactéries hétéro-fermentaires s'accumule dans la cloche après l'incubation à 30°C pendant 24 à 48 h (**Dicks et Vuuren, 1987**).

d) Test mannitol-mobilité

La mobilité des bactéries repose sur l'ensemencement de la souche par pique centrale d'un milieu semi-solide. L'incubation est réalisée durant 24h à 30°C. La gélose semi solide mannitol mobilité permet de vérifier la mobilité des souches (**Guiraud, 2003**).

La fermentation du mannitol se traduit par virage de la couleur du milieu du rouge au jaune. Les bactéries mobiles se déplacent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble dans le milieu, alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement (**Guessas, 2006**).

5.4 Etude d'un caractère technologique

➤ . Etude de l'antibiogramme

L'antibiogramme est déterminé par la technique standardisée de diffusion (D'après le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2004). Sur Milieu MRS gélosé et à partir d'une culture de 18h en milieu liquide MRS (**Moll et al., 1999**). Et à l'aide d'un écouvillon stérile, nous avons ensemencé toute la surface du milieu. Après le séchage, nous avons déposé les disques des antibiotiques sur la boîte de pétrie. Ces dernières sont incubées à 30°C pendant 18 h à 24 h.

Nous avons étudié le comportement d'une seule souche bactérienne vis-à-vis 3 antibiotiques (l'amykacine ; la ciprofloxacine ; céfotaxime) commercialisés par l'institut Pasteur d'Algérie.

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

Après incubation à 37°C pendant 24 h, des zones d'inhibition peuvent être observées autour de certains disques. L'apparition d'un halo autour de deux disques indique que cette souche est résistante (R) à deux médicaments utilisés, et rien n'est observé autour de disque resté, la souche est donc sensible à ce type de médicament (S).

6. Étude sensorielle

Pour finaliser notre étude expérimentale, nous avons introduit la pomme de terre fermentée pendant 8 jours pour la fabrication de la brioche sans l'utilisation d'une levure chimique.



Figure 05 : Pomme de terre fermenté

6.1 Technique de préparation de brioche

Pour préparer cette brioche nous avons besoin d'ingrédients suivants :

- 8 Pommes de terre fermentés.
- 2 Boites de yaourt nature.
- 1 Verre de lait.
- 1/2 Verre de l'huile.
- 1/2 Verre Sucre cristallisé.
- Farine jusqu'à l'obtention d'une pâte.
- pincé de sel.

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

Préparation de la brioche

- Tout d'abord écraser les pommes de terre fermentées.
- Dans un récipient, on met toutes les pommes de terre fermentées et les autres ingrédients sauf la farine.
- Après la préparation de ce mélange on commence par le rajout de la farine jusqu'à l'obtention d'une pâte bien texturée et on la laisse reposer pendant 2 heures, après on donne la forme à la pâte comme on veut.



Figure 06 : Brioche à base de pommes de terre fermentées.

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

6.2 Analyses sensorielles

Nous avons établi une étude sensorielle pour notre brioche avec 20 personnes font partie de la faculté de biologie -Blida- (10 enseignants et 10 étudiants), en leur donnant des fiches techniques d'analyses sensorielles pour pouvoir collecter leurs avis concernant ce produit.

Sens	Observations	Rectificatifs préconisés
La vue	Forme : Etat : Couleur : Aspect : Volume :	
L'odorat	Humer l'odeur :	
Le goût	Distinguer la saveur :	
Le toucher	La texture :	
L'ouïe	Craquant : Croquant : Croustillant :	

Figure 07 : Exemple de la fiche technique utilisée lors d'analyses sensorielles

Résultats et discussion

Chapitre 03 : Résultats et discussion

1. Résultats de l'identification des bactéries lactiques

La caractérisation de trois genres des bactéries lactiques *Lactobacillus* ; *Lactococcus* ; *Leuconostoc* ; porteur des caractères phénotypiques y compris le type fermentaire, la croissance en présence de différentes concentrations de NaCl, différents pH et différentes températures, ainsi que le profil fermentaire.

1.1. Etude macroscopique

- Sur Milieu MRS

Les colonies isolées et purifiées sont de forme ronde ou lenticulaire, de taille différente (grande ; moyenne ; et petite), de couleur blanchâtre ou grisâtre, le contour est aussi différent entre les isolats, il varie entre contour régulier. L'aspect des colonies est lisse avec pour quelque souche un aspect cotonneux, c'est ce qu'il signifie que sont des lactobacilles (Figure n°08).

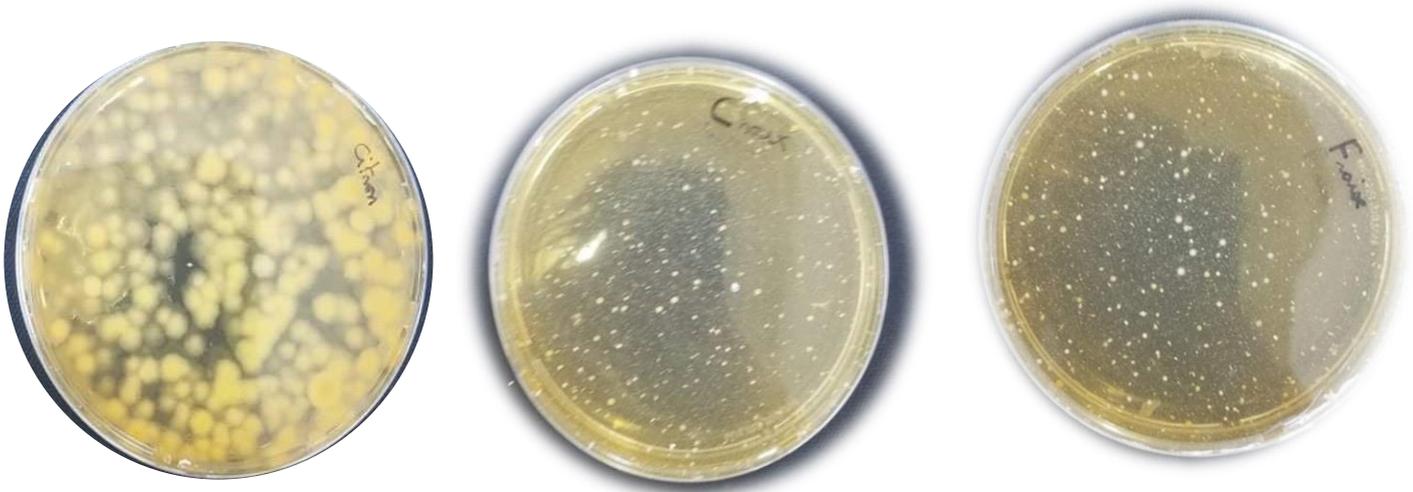


Figure 08 : Aspect des colonies des bactéries lactiques isolées sur Milieu MRS ; a) échantillon citron dilution $\times 10^1$; b) échantillon fraise dilution $\times 10^{-1}$; c) échantillon chou blanc et rouge dilution $\times 10^{-2}$.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

- Sur Milieu M17

Les colonies donnent un aspect gluant, et y'avais des colonies qui ont été transparentes, et de très petite taille et de couleur blanchâtre avec un mode de regroupement en amas beaucoup plus ; sont les caractéristiques des *Leuconstoc* et *Lactococcus* (Figure n°09).

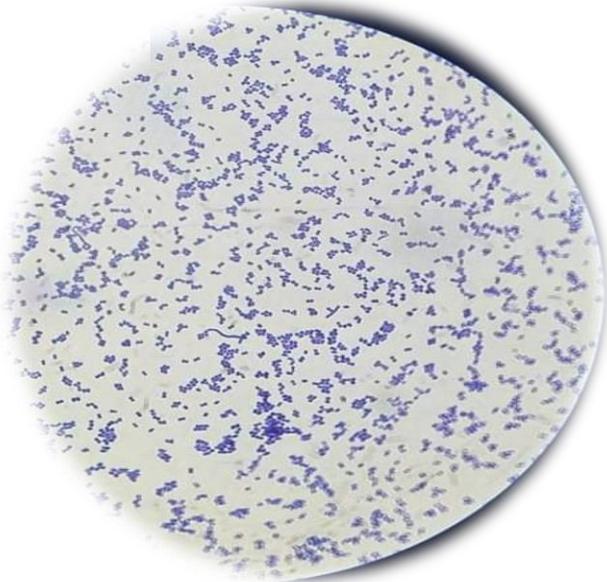


Figure 09: Aspect des colonies de bactéries lactiques isolées sur Milieu M17, Colonies transparentes.

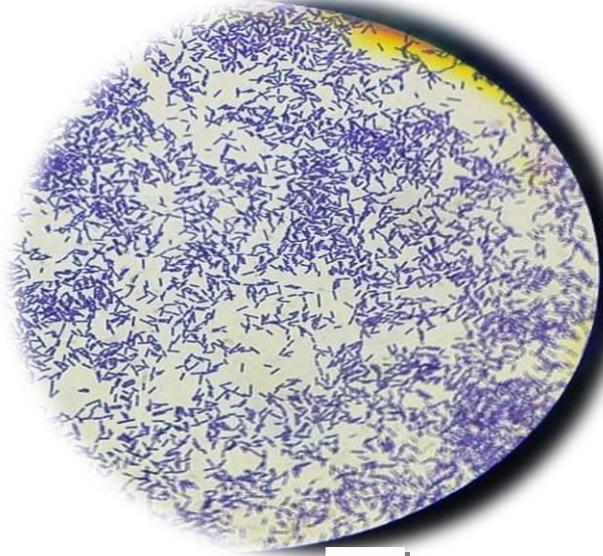
1.2. Etude microscopique

L'étude de l'aspect microscopique après coloration de Gram permet d'éliminer d'éventuels contaminants et différencier entre les coques et les bacilles.

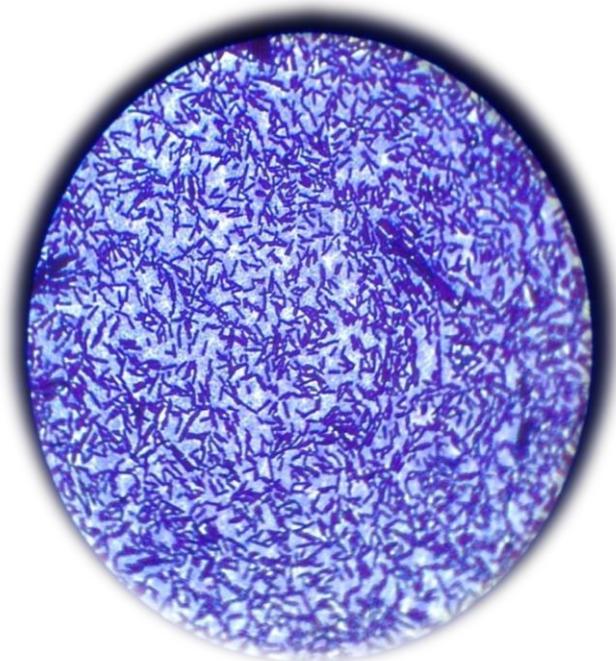
L'observation microscopique a révélé que les colonies isolées et purifiées sont des bacilles, des coques, et coccobacilles en forme 'Y' qui a été observée dans une dilution d'échantillon des fraises (dilution $\times 10^{-2}$) (figure 10).



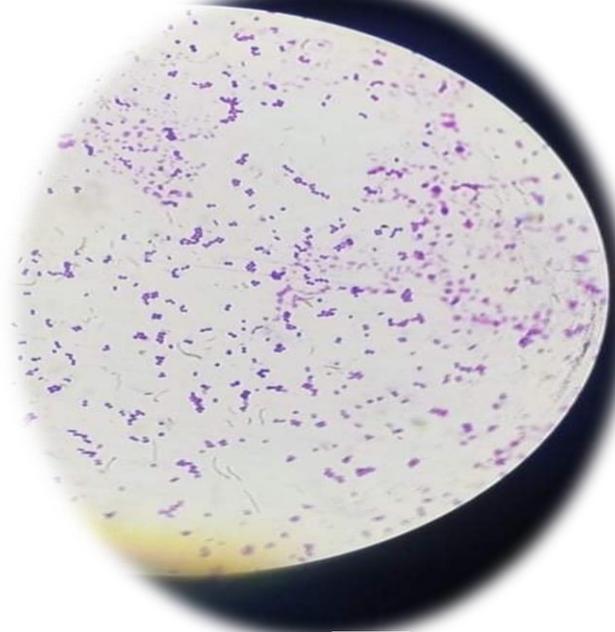
a



b



c



d

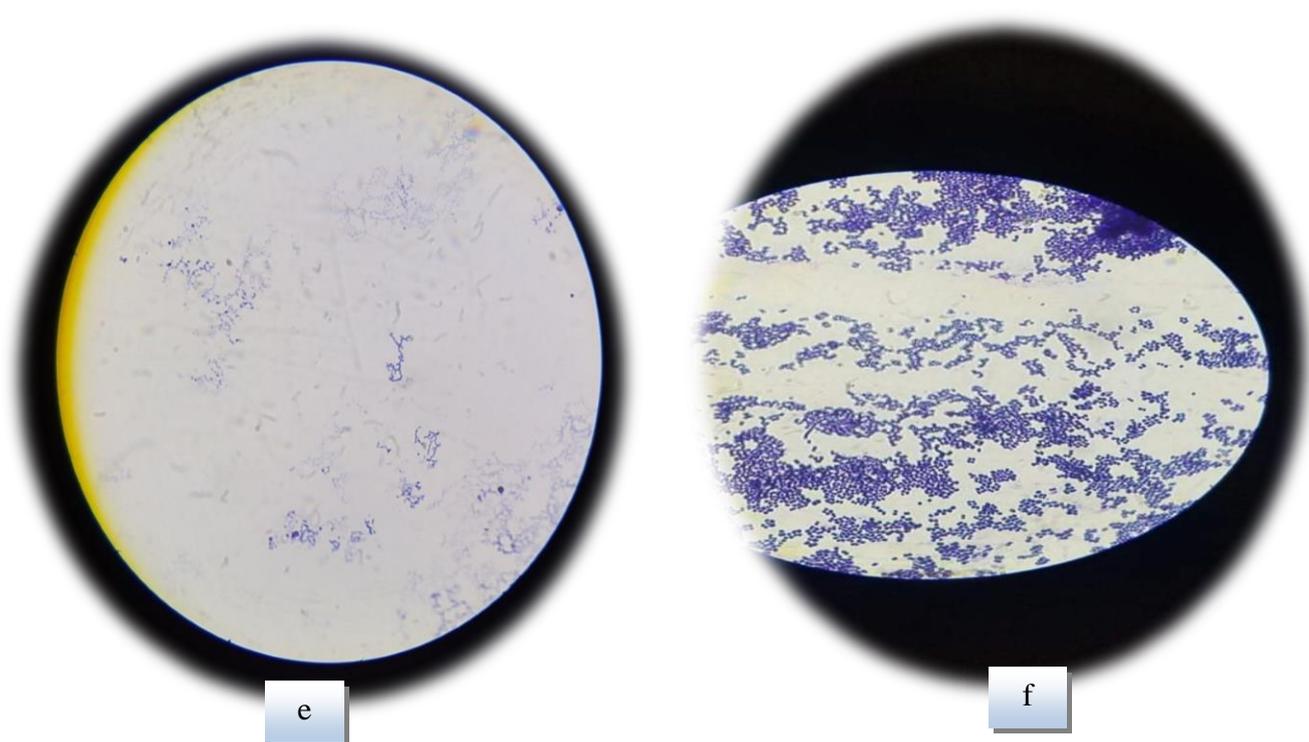


Figure 10 : observation microscopique des colonies de bactéries lactiques pures isolées de produit fermentés (fraise, chou rouge et blanc ; citron).a) Cocci ; b) Un mélange de bacilles longs et petits ; c) Les bacilles ; d) Cocci en chaîne ;e) Coccobacilles en forme Y ; f) Diplocoques.

L'observation visuelle des moisissures sur les fraises pendant la durée de la fermentation, nous a conduit à utiliser le milieu Sabourraud Chloramphénicol, ce dernier nous a permis d'identifier la présence d'une levure *Saccharomyces cerevisiae* sous microscope optique ($\times 100$)(figure n°11).



Figure 11 : Observation microscope optique (G×100).de la levure *Saccharomyces cerevisiae* isolée à partir des fraises fermentés.

1.3 Tests biochimiques

1.3.1 Catalase et oxydase

Les résultats obtenus lors de l'identification biochimique ont montré que les 6 souches étudiées et isolées à partir des produits fermentés sont de catalase et oxydase négative (tableau n°08). Aucune couleur s'apparaît sur le disque (figure n°12). Conformément aux bactéries lactiques, La bactérie lactique est d'oxydase négative.

1.3.2 Test Mannitol-mobilité

Les résultats du test Mannitol-mobilité des espèces étudiées ont montré l'absence d'un trouble veut dire que ces souches sont immobiles.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Tableau 08 : Résultats de tests biochimiques des isolats étudiés

Isolats	Catalase	oxydase	Mannitol mobilité
S1	-	-	-
S2	-	-	-
S3	-	-	-
S4	-	-	-
S5	-	-	-
S6	-	-	-

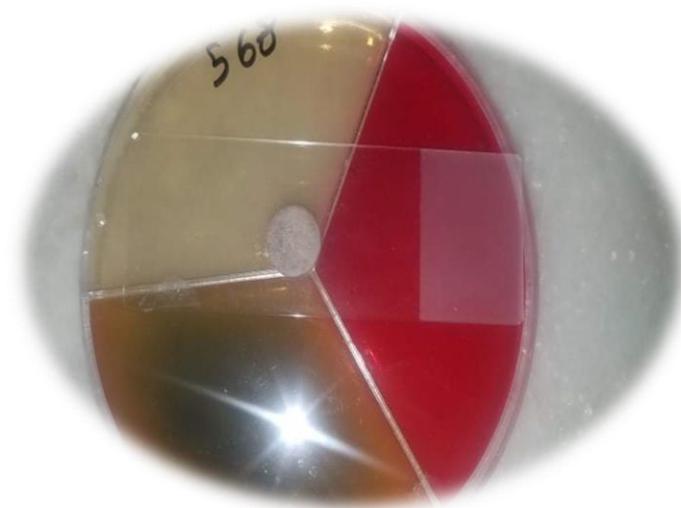


Figure 12 : Résultat du test d'oxydase

1.3.3 Croissance à différentes températures

Nous avons sélectionné six souches à étudier de différents échantillons. Les résultats ont montré une croissance importante aux différentes températures étudiées (4, 37 et 45°C). Ce test se traduit par l'apparition des troubles qui indiquent la croissance des souches isolées et testées (figure n° 13).

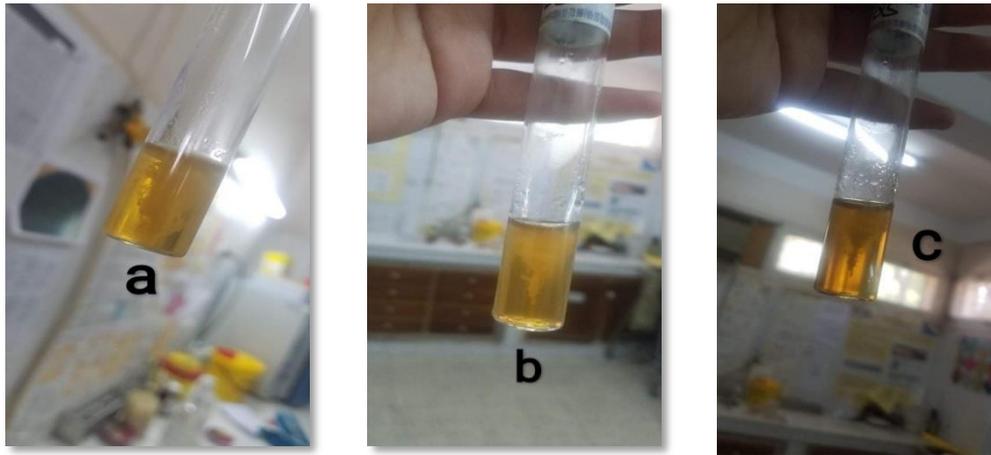


Figure 13 : Examens de croissance à différentes températures ; a) à 4°C pendant une semaine ; b) à 37°C ; c) à 45°C pendant 24 à 48 h.

1.3.4 Thermorésistante des bactéries

Le résultat de ce test s'interprète par l'apparition d'un trouble qui démontre la croissance des bactéries lactiques thermorésistantes (figure n°14).



Figure 14 : Examens de croissance à 60°C pendant 30 min.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Souche	Gram	Forme	Type fermentaire	Croissance à différentes concentration de NaCl %				Croissance à différentes températures °C			Croissance à différents pH			
				1	2	3	4	4°	37°	45°	4,4	4,9	9	9,6
S1	+	Bacille	Homo-fermentaire											
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S2	+	Bacille	Homo-fermentaire	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S3	+	Coque	Homo-fermentaire	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
S4	+	Bacille	Homo-fermentaire	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S5	+	Coque	Homo-fermentaire	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
S6	+	Coque	Hétéro-fermentaire	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-

Tableau 09 : Résultats des examens de pré-identification des bactéries lactiques.



Figure 15 : Croissance de la première souche en différentes concentrations en NaCl.

En se basant sur les résultats des tests de recherche du type fermentaire, croissances à différents pH, différentes températures, concentrations en NaCl et à la thermorésistance, ainsi que leurs comparaisons à d'autres résultats obtenus par **Salminen et al.(2004)**, représentés dans le tableau des caractères différentielles des bactéries lactiques cité dans l'annexe 2, nous avons pu établir une pré-identification pour les genres *Lactobacillus* ; *Lactococcus* ; *Leuconstoc* .

Les six souches citées dans le tableau précédent peuvent être subdivisées en trois groupes :

- ✓ le 1^{er} groupe qui renferme la souche S1 ; S2 ; S4
- ✓ le 2^{ème} groupe renferme les souches S3 et S5 ;
- ✓ le 3^{ème} groupe renferme que la souche S6

Le premier groupe est caractérisé par une morphologie cellulaire en bâtonnets, les souches sont de type homo-fermentaires. Elles peuvent se développer dans une gamme de température comprise entre 4°C et 45°C, et ont également la capacité de se développer à un pH 4,4 et à différentes concentrations de NaCl (1%, 2%, 3%, 4%). D'après les résultats obtenus de l'étude morphologique et biochimique ces souches peuvent appartenir aux genres *Lactobacillus*.

Les lactobacilles sont connus pour leur pouvoir acidifiant qui leur permet de résister à des pH inférieurs à 4 (**Stiles, 1994**). Cette caractéristique fait que les lactobacilles sont souvent, préférentiellement utilisés comme ferments pour plusieurs produits fermentés (**Saraie et al., 2021**).

Le deuxième groupe est caractérisé par une morphologie cellulaire en cocci, la recherche du type fermentaire a révélé que les souches S3 et S5 sont homo-

Chapitre 03 : Résultats et discussion

fermentaires, elles ont un optimum de croissance voisin de 30°C, ces dernières ne poussent pas à pH 9,6, et peuvent tolérer différentes concentration de NaCl. Ces souches appartiennent donc au genre *Lactococcus*.

Le troisième groupe est caractérisé par une forme cocci aussi, la recherche du type fermentaire a révélé que la dernière souche est hétéro-fermentaire, elle peut croître à une température de 37°C, et tolère un pH voisin de 5, elle peut tolérer des concentrations différentes du NaCl de 1% à 4%, ce qui signifie que cette souche appartient au genre *Leuconstoc.*

L'étude de deux espèces fait partie d'échantillon du chou (n'ont pas été mentionné dans le tableau à cause de non poursuite des tests phénotypiques de ce genre). Les résultats de turbidité ont montré la croissance de l'espèce à 60°C pendant 30 min. Cette souche peut appartenir au genre *Pediococcus*.

1.4 Résultat d'antibiogramme

Nous avons étudiées qu'une seule souche c'était la souche S3 qui a montré une résistance contre deux antibiotiques qui sont : l'amykacine ; et ciprofloxacine, par contre elle a montré une sensibilité à l'antibiotique céfotaxime, par la création d'un halo transparent.

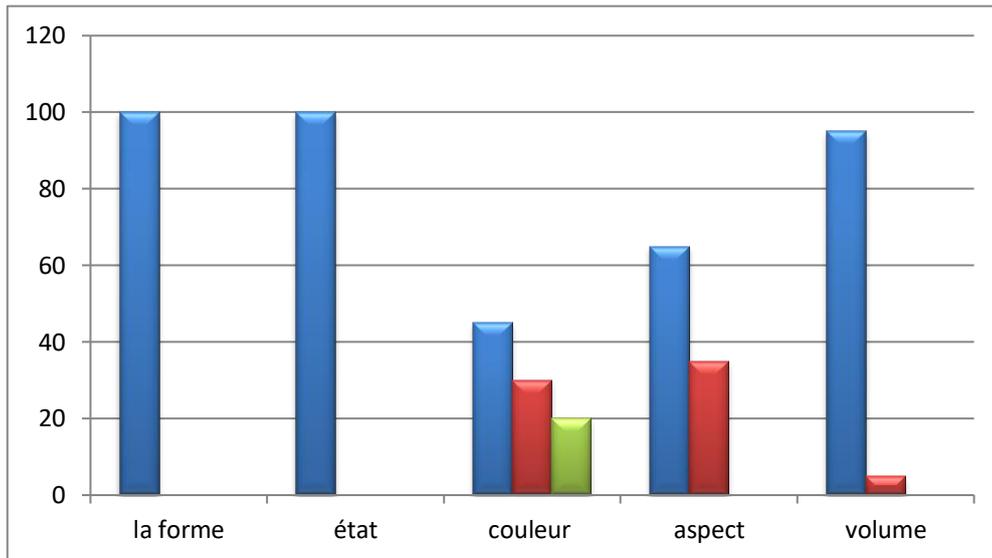


Figure 16 : Résultat d'antibiogramme de la troisième souche.

2. Résultats de l'étude sensorielle

Les résultats de cette analyse sensorielle (5 sens) sont interprétés sous forme des études statistiques montrés par les histogrammes suivants :

La vue



-Selon la forme : 100% ont dit que la forme est moyenne.

-Selon l'état : 100% ont dit que l'état de cette brioche est frais.

-Selon la couleur : 45% trouvent que la couleur est attrayante, tandis que 30% ont voté pour la couleur dorée et le reste de 20% disent que cette couleur est marron.

-Selon l'aspect : 65% pensent que cette brioche est attrayante, par contre 35% pensent que c'est non.

-L'odorat :

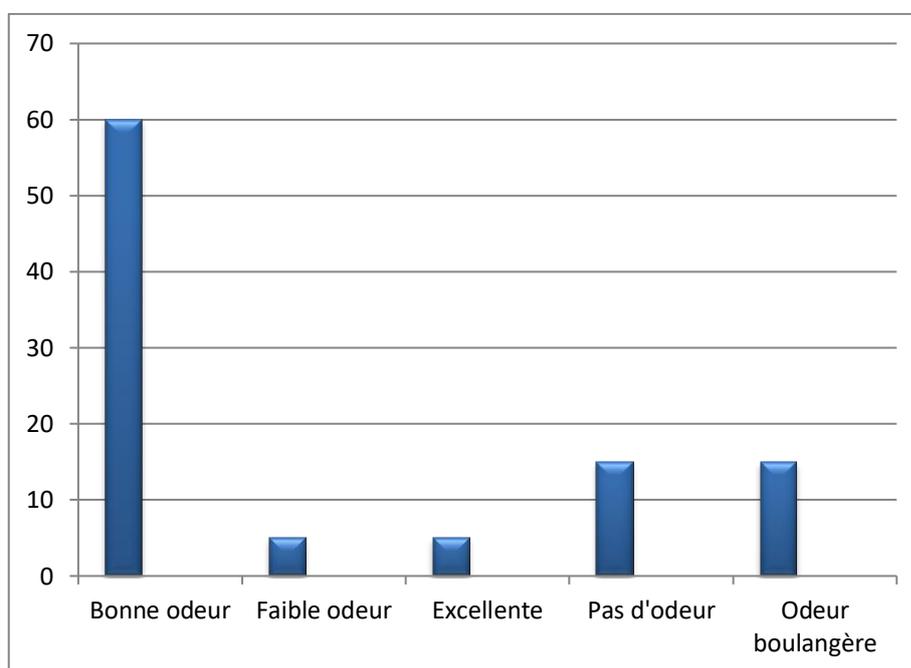


Figure 18 : Pourcentage d'analyse en fonction de l'odorat

-Le goût :

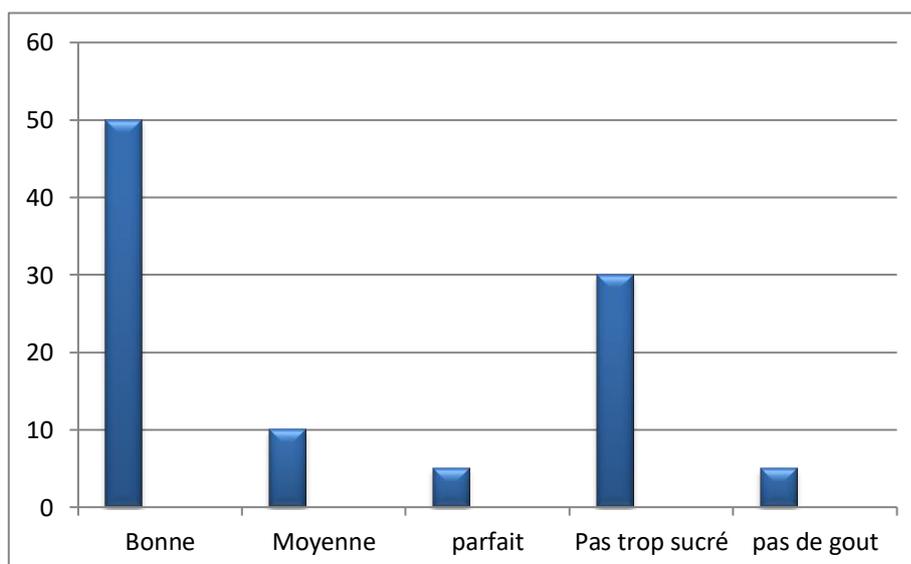


Figure 19 : Pourcentage d'analyse en fonction du goût

Le toucher :

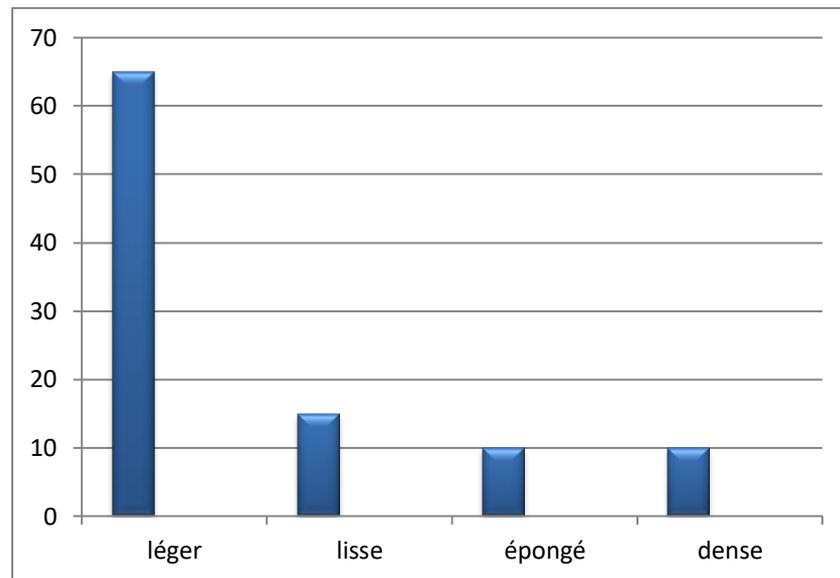


Figure 20 : Pourcentage d'analyse en fonction du toucher

L'ouïe :

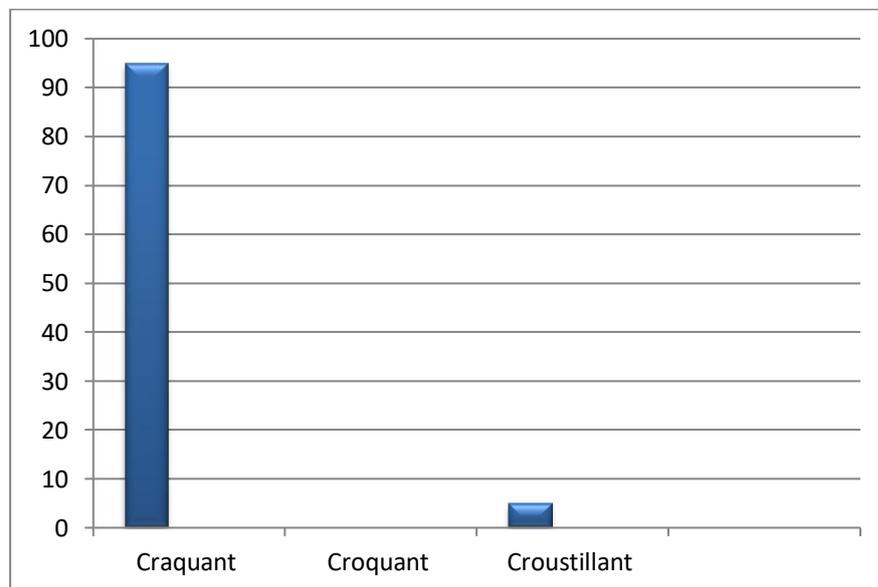


Figure 21 : Pourcentage d'analyse en fonction du l'ouïe

Chapitre 03 : Résultats et discussion

3. Test hédonique :

L'analyse sensorielle est terminée par le test hédonique, qui vise à mesurer la satisfaction éprouvée à la consommation de la brioche à base de pommes de terre fermentées ainsi que l'acceptation ou le rejet de ce nouveau produit. Tous les gens qui ont testé notre produit, ont dit qu'il est acceptable et il peut être amélioré au futur.

Discussion

A partir des 6 souches des bactéries lactiques isolées des 3 échantillons des fruits et légumes fermentés (Citron, Fraises, Chou blanc et rouge), ont été cultivées sur Milieu MRS et M17, du fait des exigences nutritionnelles des bactéries lactiques, les milieux de culture doivent être très riches en sucres, en matières azotées et surtout en facteurs de croissance (**Pilet et al., 2005**).

Les cultures pures des isolats obtenues ont été identifiées selon leurs caractères morphologiques (aspect, taille, forme, texture des colonies ont été enregistrées), biochimiques et physiologiques permettant l'identification phénotypique (préliminaire) des isolats et la méthodologie suivies pour l'isolement d'après la méthode de **Dal Bello et Hertel (2006)**.

Concernant la présente étude, nous avons appliqué la coloration de Gram, les tests de production de catalase et d'activité du cytochrome oxydase plus croissance à différentes températures pour pouvoir comparer entre les genres incluant le type fermentaire qui consiste à différencier les bactéries lactiques homo-fermentaires des hétéro-fermentaires. La coloration de Gram et l'observation sous microscope optique nous a permis d'avoir une présence majoritaire des bacilles par rapport aux coques. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Ennadir et al., (2014)**, qui ont isolé les bactéries lactiques naturellement présentes dans les farines.

L'étude de l'identification par la caractérisation morphologique, physiologique, biochimique est l'étape clé de l'isolement et la pré-identification. Cette dernière nous a permis d'identifier 3 genres qui sont les *lactobacilles* avec une prédominance (74%), *Lactococcus* (25%), *Leuconstoc* (1%). Nos résultats sont similaires à ceux de **Alomar (2007)**.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Les espèces des produits végétaux fermentés sont très variées. Les *lactobacilles* occupent un pourcentage important (74%), ce résultat est obtenu aussi par **Fessard (2017)** ; **Anonyme (2015)**, qui ont démontré que 70% des souches isolées à partir des produits végétaux fermentés sont des *Lactobacillus*, puis viennent les *lactococcus* (25%) ; les leuconstoc (1%) ; les entérocooccus qui ont pu croître à une température de 60°C pendant 30 min. La même constatation a été mentionnée par **Abdi et al., (2006)**, ayant isolés des entérocoques à partir du Lighvan, un fromage iranien fabriqué à partir du lait de brebis c'est le même résultat apporté dans notre étude, ainsi les études menées par **Stiles et Holzapfel (1996)** ; **Larpent et al., (1997)** ont démontré que les entérocoques poussent dans des conditions hostiles, en présence de 6,5% de NaCl, à pH 9,6 et croissance à 45°C et pu survis à une température de 60°C pendant 30 min en créant des turbidités montrant leur croissance.

Au vu des résultats obtenus, nous pouvons dire que l'identification par la caractérisation morphologique, physiologique, biochimique est très importante et c'est meme l'étape clé de l'isolement et la pré-identification, mais il serait intéressant de faire une identification plus poussé en utilisant des méthodes technologiques et moléculaires par PCR (qui permettent de mieux révéler et identifier la flore bactérienne présente dans le différent biotope). En effet, le travail de **Kacem Mourad et al., (2004)** a prouvé que les espèces bactériennes peuvent être très bien discriminées par l'identification protéomique en utilisant la technique MALDI-TOF MS avec un intérêt d'application dans le contrôle des aliments et dans le secteur biomédical.

Conclusion générale

Conclusion

La conservation des produits végétaux par la fermentation lactique est une technique bénéfique et avantageuse, outre les saveurs, les parfums et les textures uniques, ainsi ce processus apporte de nombreux bienfaits pour l'organisme. Elle se réalise sous l'action des bactéries lactiques qui produisent des acides organiques tout en inhibant les fermentations indésirables.

Le but de cette étude était d'identifier et d'isoler les bactéries lactiques à partir des fruits et légumes fermentés, à l'issue de ce qui a été réalisé 6 souches ont été isolées, purifiées et identifiées.

L'identification des souches a été réalisée par la détermination de caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques. Cette étude a conduit à l'identification de 3 genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconstoc*.

Nos résultats ont montré la prédominance des lactobacilles avec un taux de 74%, l'étude de thermorésistance à 60°C pendant 30 min, nous avons eu une turbidité dans le tube incliné, ce qui signifie la présence de *Pediococcus* qui ont la capacité de pousser dans ces conditions.

La conservation lactique par les lactobacilles a donné des résultats satisfaisantes avec le citron et le chou ce qui n'est pas le cas avec les fraises. Ces dernières sont facilement altérables nécessite d'autres essais et méthode de conservation biologique.

En perspective, il faut une meilleure caractérisation technologique tels la production des exopolysaccharides et le pouvoir acidifiant suivi d'une étude des propriétés moléculaire (PCR/ADNr 16s) pour une identification efficace, pour pouvoir mettre en évidence les espèces présentes dans nos produits végétaux fermentés.

Aussi l'enjeu final à long terme, surtout pour l'agro-industrie est de trouver un moyen naturel (Bactéries lactiques) pour diminuer l'utilisation des conservateurs chimiques lors de la conservation de certains aliments ; donc il serait intéressant de tester in vitro l'utilisation de ces isolats une fois identifiés, dans la préparation d'aliments fermentés.



Références Bibliographiques

A

- 1. Abdi, R ; Sheikh-zeinoddin,M ; Soleimanian-Zad,S, 2006.** Identification of lactic acid bacteria from traditional iranien Lighvan cheese, Pack J Biol Sci 9,99-103.
- 2. Aguirre,M., Collins,M,D. 1993.** Lactic acid bacteria and human clinical infection. Journal of applied microbiology :75(2) :95-107.
- 3. ALOMAR, J.2007.** Etude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de Staphylococcus aureus en technologie fromagère. Thèse de doctorat. Institut nationale polytechnique de Lorraine(INPL).
- 4. Al-Shehbaz,I,A, Beilstein,M,A, Kellogg,E,A .2006.** Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. Plant SystEvol259:89–120 AOCS (1998) Official methods and recommended.
- 5. Ammor S., Tauveron G., Dufor E. et Chevalier I., 2006.** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*. 17 : 454-461.
- 6. Angelin, J., Kavitha, M.2020.** Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. International Journal of Biological Macromolecules.162 :853- 865.
- 7. Aslam, S et Javed,Q. 2010.**Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic et microbial contaminants. Pakistan Journal of Zoology : 42 :567-573.
- 8. Axelsson, L.2004.**"Lactic acid bacteria: Classification and physiology", in Lactic acid bacteria.. Microbiological and functional aspects, S.Salimnen, A,Wright., A,Ouwehand, Eds., pp :1-66, Marcel Dekker Inc, New York.

B

9. Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait crû de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Tech*; 23:30-37.

10. Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Foncesa, F., 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 ;661-765.

11. Belyagoubi, L. 2014. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr-Belkaïd-Tlemecen. p :170.

C

12. Camille Delarras. (2007); microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. 476 pages. PP320-359.

13. Carr Frank J, Chill Don and Maida Nino (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, Vol .28(4): 281- 370.

14. Chutia M., Bhuyan D.P., Pathak M.G., Sarma T.C. et Boruah P. 2009 : Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. *LWT* Vol. 42, pp : 777–780.

15. Ciquel, 1995. Répertoire général des aliments, INRA, 1. Table de composition des corps gras (1987), 2. Table de composition des produits laitiers d'analyses ou de contrôle sanitaire. 476 pages. PP320-359, Paris.

16. Collins, M.D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., Wallcanks, S. Taxonomic studies on some leuconstoc-like organisms from fermented sausages : description of a new genus *Weissella* for the *Leuconstoc paramesenteroides* group of species. 1993. *Journal*.

Appl. Bacteriol :75(6) :595-603.

D

17. Da Silva Pinto, M., Lajolo, F.M., Genovese, M.I., 2008. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry* 107, 1629-1635.

18. Dal Bello, F. and Hertel, C. (2006). Oral cavity as natural reservoir for intestinal lactobacilli. *Syst. Appl. Microbiol.* 29, 7–69.

19. De man, J.C ; Rogosa ,M.A., Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology.* 23(1) :130-135

20. Débuigine G. et Couplan F. 2008. *Petit Larousse des plantes qui guérissent.* Ed : Larousse, Paris. 895 p.

21. Declomesnil, S. Pouvoir d'acidification des bactéries lactiques en fonction de leur activité, de l'eau et de la durée de stockage. *Technologie process.* 2014 ; (30):11-14.

22. Delorme C, Bartholini C, Bolotine A, Ehrlich SD, Renault P. 2010. Emergence of a cell wall protease in the *Streptococcus thermophilus* population. *Appl. Env. Microbiol.*, 76(2): 451-460.

23. Di Cango, R., Coda, R., De Angelis, M., Gobbetti, M. 2013. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol.* 33, 1-10.

24. Dicks, L.M.T et Vurren, H.J. 1987. A modification of the hot-tube method for the detection of carbon dioxide produced by heterofermentative *Lactobacillus* strains. *J. Microbiol. Meth.* 6 :273-275.

25. Dortu C .et Thonart P., 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaire Biotechnol. Agron. Soc. Env. 13(1) : 143-154.

26. Dupin H., Cuq J. L., Malewiak M. I., Leynaud-Rouaoud C. et Berthier A.M. 1992. Alimentation et nutrition humaines. Paris : ESF éditeur. pp 1533.

E

27. Ennadir, J., Hassikou, R., AlAskari G., Arahou M., Bouazza F., Amallah L., S. A. amine, Khedid K., Mater J. 2014. Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco Environ. Sci. 5 (4).

F

28. Fessard, A., Remize, F. 2017. Why are Weissella spp. Not as commercial starter cultures for food fermentation ?. A Review. Université de la Réunion et Montpellier.

29. Fessard, A. 2017. Recherche de bactérie lactique autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de la Réunion.

30. Fitz, I.J et Kuipers, B. La conservation des fruits et des légumes. 2003. Journal of food protection (9), 46-94.

G

31. GANOU-PARFAIT, B., FAHRASMANE, L. et PARFAIT, A. LACTO-FERMENTATION DU GOMBO, FRUIT DE L'HIBISCUS ESCULENTUS. 1993 *Scien&Tech*, (29) : 246-253.

- 32. Garry, P., Christienas, S., Cartier, P.2008.** Procédés de bio-préservation.7p203-207.
- 33. Garvie,E,I.,1986.**Gram positive cocci-genus *Leuconstoc*.In:Bergy'sManuel, 9th edition, the williams and Wilkins Co., Baltimore.1071-1075.
- 34. Ghareaghajlou,N.,Nezhadi,S.,Ghasempour,Z.2021.**Redcabbage anthocyanins : Stability,extraction,biologiclactivities and applications in foodsystems.Foodchemistry. Journal Pre-proof.
- 35. Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J.M., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M., (2012).**The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health.Nutrition 28, 9-19.
- 36. Glory,L,M.,Etienne,T,P.,Roger,K,J.2021 .**Seasonal diversity of lactic acid bacteria in artisanl yoghurt and their antibiotic susceptibility pattern.
- 37.Guessas B., Hadadji M., Saidi N. and Kihal M., 2006.**Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. Dirasat,Agruicultural Sci. 32: 3, 304-312.
- 38. Guiraud G et Galzy P. 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition: l'Usine nouvelle. Paris: 240p
- 39. Guiraud J P ; 2003.** Microbiologie Alimentaire. Tec &Doc, Dunod.Paris.90-292.
- 40. Guiraud J.P. 2004.**Pratique des normes en microbiologie alimentaire.Afnor. Saint-Denis la plaine, Paris. 300 p. on human health. Nutrition 28, 9-19. 41.
- 41.Guessas, B.2006.**Les potentialités métaboliques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans la bio-contrôle de *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat en microbiologie appliquée.Université d'oranEl-Senia.
- H**
- 42.Hayek,S,A et Ibrahim,S.**Current limitations and challenges with lacticacid bacteria :areview. Food and Nutrition Sciences.2013 ;(4) :73-87.

43. **Hammes,W,P et Vogel,R,F.1995.**The genus *Lactobacillus*,19-54.

44. **Heleni S., Lefki P., Nikolaos T et Evanthia L.T.2006.**Population, types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories. *Int.J.Dairytechnol.* Vol.59, no3, pp.200-208.

45. **Holzappel,W,H.,Haberer,P.,Geisen,R.,Bjoreroth,J.,Shillinger,U.**Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **2001.** *American Journal of Clinical Nutrition* : 73(2) :365-373

I

46. **Idoui, T.2009.**Naturally fermented jijelian black olives: microbiological characteristics and isolation of lactic acid bacteria. *Journal Grasas y aceites.*60:516-520.

47. **Idoui,T et Karam,N,E.2008.**lactic acid bacteria from jijel's butter :isolation, identification and major technological traits .*Grasas y Aceites.*59(4) :361-367.

J

48. **Jameh, N.2012.**Variability of hydrolysis of B- α ₁, and α ₂Caseins of *Streptococcus thermophilus* and resulting bioactive peptide.

K

49. **Kabli,M., Yilmaz,T,M., Taylan,O., Kaya,Y., Ispirli,H., Basahel,A., SAgdic,O., Dertili,E.2020.**An integrated neural-fuzzy methodology for characterisation and modelling of exopolysaccharides (EPS) Production levels of *Leuconostoc mesenteroides*.vol :148.

50. **Klaenhammer,T,R., Barrangou,R., Logan Buck,B., Azcarate- Peril,M,A.** Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FemsMicrobial, Review.*2005 ; 29 :393-409.

51. **Kacem, M, Zadi-Karam, H and Nour-Eddine, K.2004.**Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green Algerian olive.*Grasas y Aceites.* Vol. 55(4). 385-393.

L

52. **Larpent J-P., 1996.** Les bactéries lactiques In Microbiologie alimentaire:Aliments fermentés et fermentation alimentaires.

53. **Larpent J.P, 1997.** Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Tec& Doc, Lavoisier, Paris, 10-72.

54. **Leroi, F.2009.**Bactéries lactiques et applications alimentaires.Département de sciences et techniques alimentaires marines.5 :459-474.

55. **Leroi,F. 2014.** Dés bactéries marines pour la conservation des aliments.360 :33-35.

56. **Liu,W., Pang,H.,Zhang,H.,Cai,Y.**Biodiversity of lactic acid bacteria. InLactic acid bacteria ; The nether lands.2014 ; 10: 103-203

57. **Li,W., Ren,M., Duo,L., Li,J., Wang,S., Sun,Y., Li,M., Ren,W., Hou,Q., Yu,J.,Sun,Z., Sun,T.2020.**Fermentation characteristics of *Lactococcus lactis* subsp.lactis isolated from naturally fermented dairy products and screening of potential starter isolates.. J.Appl microbiol.14

M

58. **Maatsch,J.,Gurtner,R.,CaRLE,C.,Bjorn,S.2019.** Investigation into the removal of glucosinolates and volatiles fromanthocyanin-richextracts of red cabbage. Food chemistry, 278:406-414.

59. **Maciel,J.,Teixeira,A,M.,Moraes,C,A.,Gomide,L,A,M.2003.**Anti-bacterial activity of lactic acid cultures isolated from italien salami. Brazilian journal of microbiology:34 : 121-122.

60. **Makhloufi,K,M. 2011.** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconstoc pseudo mesenteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat en Microbiologie, Biochimie. Université Pierre et Marie Curie- Paris 6. France.p :200.

61. **Marchal N., Bourdon J.L.et Richard C.L., 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed., Doin éditeurs, Paris.

62. **Matamors,S.** «Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la bio-préservation des aliments, étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid».2008. Thèse de doctorat, université de Nantes.

63. **McAuliffe, O.2018.Symposium** review : Lactococcus lactis from non dairy sources : their genetic and metabolic diversity and potential applications in cheese. Journal dairy sciences. 101, 3597-3610.

64. **Merghni,A., Dallel,I., Noumi,E., Kadmi,Y., Hentati,H., Tobji,S., Ben Amor,A., Mastouri,M.2017.** Antioxydant and anti pro life rative potential of bio surface tants isolated from Lactobacillus casei and their anti-biofilm effect in oral Staphylococcus aureus strains.Microbial pathogenics.104: 84-89.

65. **Minh Tu N.T., Thanh L.X., Une A., Ukeda H. et Sawamura M.2002** : Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. Flavour Fragrance J. Vol. 17, pp : 169 – 174

66. **Moll. G. N;Konings. W. N;Driessen. J. M. (1999)** .Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation .Antonie Van Leeuwenhoek 76: p 182.

67. **Monnet,V., Latrille,E., Beal,C., Corrieu,G.2008.**Review : Compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses : origins and properties.J.DairySci 79 :169-184.

68. **Moradi,M.,Guimaraes,J,T.,Sahin,S.2021.** Current applications of exopolysacchrides from lactic acid bacteria in the development of food active edible packaging. Current opinion in food science. 40 : 33-39.

69. **Moreno-Arribas,V.,Lonvaud- Funel,A.1999.**Tyrosine decarboxylase activity of Lactobacillus brevis IOEB isolated from Wine and L.brevis ATCC367.FEMS Microbiology letters. Vol180(1).

N

70. **Nehal F. 2007** : isolement et caractérisation de souches de *Lactococcuslactis*à partir de differents laits dans le perimetre du moyen cheliff. Thème de Magistère.

71. **Neikell,J.** Les bienfaits de la fermentation.2017. Livre édition Rustica,p108 Université Chlef.18-30 p.

P

72. Patterson C, PhD, PAg 2008. The path finde Research&Management Ltd
Probiotiques : Bienfaits au-delà des fonctions nutritionnelle de base, 1-4.

73. Piard, J, C., Desmazeaud, M. 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. I. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Le lait*. 63 :68-245.

74. Poulsen, K, V., Koza, A., Al-Nakeeb, K., Oeregaard, G. 2020. Screenig for texturing *Leuconstoc* and genomics behind polysaccharide production. *FEMS Microbiology Letters*. 367(20).100-

R

75. Ray, M, C. Lait cru ou pasteurisé, entre tradition et hygiène *Food Control*. 2021. 85.p1.

76. Rezac, S., Kok, C, R., Heerman, M., Hutkins, R. 2018. Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Front Microbial*. 9.1700-1785

77. Rodgers, S. 2001. Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures : a review. *Trends in Food science and technology* 12 :276-284.

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

S

79. Samec, D., Pavlovic, L., Salopek-sondi, B. 2017. White cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*): botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem Rev* 16:117-135.

§0. **Savadogo,A et Traore,S,A.2011.**La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. Review .Int. J. Biologie Chemical Science (5): 2057-2075.

§1. **Saraie,H., Khanjani ;S., Bibalan,M.2021.**Isolation and phenotypic and genotypic characterization of the potential probiotic strains of *Lactobacillus* from the Iranian population.New microbes and new infections.

§2.**Settier-Ramirez,L.,Lopez-Carballo,G.,Gavara,R.,Hernandez-Munoz,P.2021.**Effect of casein hydrosates on the survival of protective cultures of *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus Sakei* in PVOH films. Food Journal Hydrocolloids.7.

§3.**Schleifer,K,H.,Kraws,J., Dvorak ,C., Kilpper,R., Collind,M,D., Fisher,W.**Transfer of *Streptococcus lactis* and related *Streptococcito* the genus *Lactococcus*gen, systematic and applied microbiology.1985 : 6(2) :183-195.

§5.**Stiles,D.1994.**Tribles and trade : A strategy for cultural and ecologicalsurvival. Ambio a journal of the human environment23(2).

§6. **Stiles,M,E et Holzapfel,W.**Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.Int.J.Food Microbial.1997 ;36(1) : 1-29.

T

§7.**Tailliez,P.:** Mini-Revue : les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années.2001. Unité de recherche laitière (81) :p 1-11.

§8.**Tamime A.Y, 2002.** Microbiology of starter cultures. In:Dairy microbiology.

§9. **Terzaghi et sandine,1975.** M17 agar, progress in industrial microbiology , 37,1975 : 508-510.

90.**Toqeer,A, Kanwal,R and Ayub,N.** Influence of Temperature on Growth Pattern of *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and *Lactobacillus acidophilus* Isolated from Camel Milk. Biotechnology.2006 ; 5: 481- 488.

91. Touati, K. 2014. Evaluation du risque fongique dans la mucoviscidose : étude internationale multicentrique prospective évaluant la prévalence de micromycètes et comparant les performances analytiques des milieux de culture-Muco fong international project. Thèse de Doctorat. Université Lille de droit et santé.

W

92. Williams, D.J., Edwards, D., Hamernig, I., Jian, L., James, A.P., Johnson, S.k., Tapsell, L.C. 2013. vegetables containing phyto chemicals with potential anti-obesity properties : areview. Food Res Int 52 :323-333.

Z

93. Zhiyuan, X., Qingbin, G., Zhang, H., Zhiqiang, X., Zhang, X., Lianzhong, A. 2021. Sturctural characterisation of EPS of Sterptococcus thermophilus and its application in milk fermentation. International journal of biological macromolecules. 178 :263-269.

94. Zhou, M., Zheng, X., Zhu, H., Li, L., Zhang, L., Liu, M., Liu, Z., Peng, M., Wang, C., Li, Q., Li, D. 2021. Effect of *Lactobacillus plantarum* enriched with organic/inorganic selenium on the quality and microbial communities of fermented pickles. Vol 365.

Références bibliographique

ANNEXE

Annexe 01 : les milieux de culture, appareillages et verreries

Gélose MRS : (De Man, Rogosa et Sharpe, 1960)

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Citrate d'ammonium	2 g
Acétate de sodium	5 g
Sulfate du magnésium	0,2 g
Sulfate de manganèse	0,05g
Phosphate di potassique	2 g
Agar	5 g
Tween	1 ml
pH	6,2±0,2
Autoclavage	120°C/20min

Gélose M17 : (Terzaghi et Sandine, 1975)

Tryptone	2,5 g
Peptone pepsique de viande	2,5 g
Peptone papainique de soja	5g
Extrait autolytique de levure	2,5 g
Extrait de viande	5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	2,5 g
Agar agar bactériologique	15g
pH	7,1 ± 1,2
Autoclavage	120°C/20min

Gélose Sabouraud additionné de Chloramphénicol (Touati, 2014)

Peptone de caséine	5g
Peptone de viande	5g
Glucose monohydraté	40g
Chloramphénicol	0.5g
Agar	15g
pH	5,6 ± 0,2



Photos des milieux de culture utilisés (de gauche à droite) : Milieu MRS ; Milieu M17 ; Milieu Sabouraud chloramphénicol

Appareillages

Étuve ; PH mètre ; Bain marie ; Autoclave ; Réfrigérateur (-4°C) ; Congélateur (-20°C et -45°C) ; Vortex ; Balance de précision ; Centrifugeuse ; Agitateur et barreau magnétique ; Microscope optique ; Malaxeur Stomacher.

La verrerie

Tubes à essai ; bécher ; erlenmeyer ; flacons de 180ml ; lames ; lamelles.

Annexe 02 : Tableaux référentielles utilisés pour l'identification des souches lactiques

Tableau : Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques (Salminen et al., 2004).

Caractères	Bâtonnets			Cocci						
	<i>Carnob.</i>	<i>Lactob.</i>	<i>Aeroc.</i>	<i>Enteroc.</i>	<i>Lactoc. Vâgoc.</i>	<i>Leucono. Oenoc.</i>	<i>Pedioc.</i>	<i>Streptoc.</i>	<i>Tetragenoc.</i>	<i>Weïsse.^a</i>
Formation des tétrades	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
CO ₂ à partir de glucose ^b	- ^c	±	-	-	-	+	-	-	-	+
Croissance à 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Croissance à 45°C	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
Croissance à 6.5% d'NaCl	ND ^d	±	+	+	-	±	±	-	+	±
Croissance à 18% d'NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance à pH 4.4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
Croissance à pH 9.6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Configuration d'acide lactique ^e	L	D, L, DL ^f	L	L	L	D	L, DL ^f	L	L	D, DL ^f

+ : Positif, - : Négatif, ± : Réponse varie selon les espèces ; ND : Non déterminé ; *Weïsse.^a* : Souches peuvent être bâtonnets. ^b : - : Homofermentaire, + : Hétérofermentaire. ^c : Petite quantité de CO₂ produite qui dépend du milieu.

^d : Absence de croissance à 8% d'NaCl ; ^e : Configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose.

^f : Production de D-, L- ou DL- acide lactique varie selon les espèces.

Tableau : Caractéristiques des lactobacilles (Guiraud,2003).

Groupe	Betabacterium									Streptobacterium							Thermobacterium					
	<i>L. brevis</i>	<i>L. buchneri</i>	<i>L. cellobiosus</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. fructivorans</i> *	<i>L. hilgardii</i> **	<i>L. kefir</i>	<i>L. sanfrancisco</i>	<i>L. viridiscens</i>	<i>L. casei/casei</i> ***	<i>L. casei/pseudoplantarum</i>	<i>L. casei/rhamnosus</i> ****	<i>L. casei/tolerans</i> ^o	<i>L. curvatus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. delbrueckii/bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii/delbrueckii</i> ^{oo}	<i>L. delbrueckii/lactis</i>	<i>L. helveticus</i> ^{ooo}	<i>L. salivarius</i>
CO ₂ sur glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	-	-	-
Culture à 15 °C	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Culture à 45 °C	-	-	+	+	-	-	-	v	-	-	-	+	-	-	v	.	+	+	+	+	+	+
Arginine (NH ₂)	+	+	+	+	+	v	+	-	-	-	-	-	-	-	-	.	-	-	v	v	-	-
Amygdaline	-	-	v	-	-	-	-	.	-	+	+	+	-	-	+	+	+	v	-	+	-	v
Esculine	v	v	+	-	-	-	-	v	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	v	-	v
Culture teepol 0,4 %	+	+	+	-	+	-	-	-	-	.	+
Arabinose	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	v	-	-	v	+	-	-
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	v	v	-	-
Gluconate	v	v	v	v	v	v	v	v	v	+	v	+	v	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Lactose	v	v	v	+	-	v	v	.	-	v	+	+	+	v	+	-	+	+	-	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	v	+	-	-	-	-	-	+
Mélezitose	-	+	+	.	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	v	v
Mélibiose	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	v	-	-	-	-	+
Raffinose	v	v	+	+	-	v	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	v	-	-	-	-	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	v	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	v	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Saccharose	v	v	+	+	v	v	-	-	v	+	+	+	-	v	+	+	+	-	+	+	-	+
Tréhalose	-	-	+	v	-	-	-	-	v	+	+	+	-	-	+	.	v	-	v	+	v	+
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	v	+	-	-	-	-	-	+
Acide lactique (type)	DL	.	.	DL	DL	DL	.	.	.	L	D	L	.	DL	DL	DL	DL	D	D	D	DL	L
Sérotype	E	E	F	F	BC	.	C	-	.	D	.	.	E	E	E	A	G
% acide sur lait	1,3	.	1,3	-	.	0,3	.	0,3	1,5	0	1,5	2,7	0,9
Auxotrophies	F	R	-	-	R	PF	.	PF	.	.	-	.	RFB	R	RT	RB	RP	RF

v : variable ; R : riboflavine ; P : pyridoxal ; F : acide folique ; B : vitamine B12 ; T : thymidine ; . : non déterminé
^o voisin de *L. trichodes* ; ** voisin de *L. desidiosus* ; *** = *L. casei* ; **** = *L. rhamnosus* ; ^o = *L. tolerans* = *L. paracasei* / *tolerans* ; ^{oo} voisin de *L. leichmanii* ; ^{ooo} voisin de *L. jugurti*