

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE



CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED -NAAMA-



Institut des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**MEMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master Académique en Sciences Biologiques

Spécialité « Microbiologie Appliquée »

**Thème**

---

**Isolement et caractérisation des bactéries lactiques de la flore  
autochtone du blé tendre**

---

Présenté par :

*M<sup>elle</sup>* : Abidallah Warda

*M<sup>elle</sup>* : Negadi Nadjat

Soutenue le 13/09/2020 devant le jury :

*M<sup>me</sup>*. Lagha Nouria                      Maitre de conférence. A    **Présidente**

*M<sup>r</sup>*. Amrouche Abdel-ilah              professeur                      **Encadreur**

*M<sup>r</sup>*. Dr Gherib Mohammed              Maitre de conférence. A    **Examineur**

Année Universitaire : 2019-2020

## **REMERCIEMENTS**

*Au terme de ce travail nous remercier*

*Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

\*\*\*\*\*

*Nos reconnaissances vont tout d'abord au Professeur Amrouche Abdel illah qui nous a honorée en acceptant de diriger ce travail, pour son encadrement rigoureux et méthodique et les compétences dont il nous 'a fait bénéficier an long de toutes nos études.  
. Merci de nous avoir guidées avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit.*

\*\*\*\*\*

*Nous exprimons notre remerciements aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations.*

\*\*\*\*\*

*Nous remercions les ingénieurs de laboratoire de centre universitaire salhi Ahmd .  
Nous remercions Meme zineb l'ingénieure de laboratoire de minoterie de Merabet.*

# Dédicaces

*Je dédie ce travail*

*A ma mère*

*Que ce travail soit pour toi pour ton aide précieuse pendant toutes ces années que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.*

*A mon père*

*Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde que dieu te donne longue vie et te protège pour moi..*

*A Ma tante rebiha*

*Je ne saurais te distinguer de ma mère, J'ai toujours apprécié ton amour envers moi.*

*A Ma belle-mère Djemaa*

*merci pour vos encouragements et pour vos soutiens*

*A Mon fiancé Walid*

*Je te remercie énormément pour ton soutien moral, et tes précieux conseils.*

*A Mes beaux-frères*

*Mohamed, Walid ,Nour eddine, Zakaria,Abed elbaki, Tayeb djawad ,Abed Raouf.  
qui n'ont pas cessé de m'encourager.*

*A Mes Chères sœurs*

*Fatiha ,Hafida, Zohra, Nadjet . pour leurs encouragements et pour leurs aides.*

*A Mon binôme Nadjet*

*A Mes chers amis et mes proches*

*Djamila , Sabah ,Lamia ,Hanane*

*-A toute ma famille*

**WARDA**

# Dédicaces

- ❖ Merci d'Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve
  
- ❖ J'ai le grand honneur de dédier modestement le fruit de mes longues années d'études en premier lieu aux êtres, les plus chers au monde : mes parents. Quoi que je fasse je ne pourrais leur rendre ce qu'ils ont fait pour moi, si je suis arrivée là c'est bien grâce à eux que dieu les bénisse, et leur accorde longue vie et les protège.
  
- ❖ A mon premier amour, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir « Noureddine »

A mes frères : Abdel Aziz et Mourad

A mes sœurs : Asma , Lobna

A ma belle chérie : Hadjer

A mon binôme: Warda

- ❖ Toutes mes amies, en particulier : Lamia , Jamila , Sabah et Fatima

A tous ceux que j'aime et je respect.

***NADJET***

## Résumé

L'objectif de ce travail est d'isoler, caractériser et d'identifier des bactéries lactiques de la flore autochtone des grains de blé tendre par l'étude des facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques des propagules fongiques de la dite flore autochtone.

Cette étude est le point de départ dans le but d'ouvrir la recherche sur la capacité de l'autoprotection naturel de ces bactéries, par la sécrétion des substances inhibitrices d'altération des moisissures au cours de stockage.

L'isolement et la purification des souches lactiques (Gram positifs et catalase négative) ont été faits par l'utilisation du milieu MRS bouillon et MRS agar.

Les colonies isolées ont été identifiées en étudiant les caractéristiques physiologiques, biochimiques et morphologiques (coloration Gram, test catalase, test des pH, thermorésistance, effet de NaCl, croissance sur le lait de Sherman).

Les résultats obtenus ont montré que les bactéries lactiques isolées de blé appartiennent aux genres *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, et *leuconostoc*.

**Mots clés :** Blé, Bactéries lactiques, isolement, Caractérisation phénotypique.

## **Abstract**

The objective of this work is to isolate, characterize and identify lactic bacteria from the native flora of soft wheat grains by studying the morphological, physiological and biochemical factors of fungal propagules of the so-called native flora.

This study is the starting point for research on the ability of natural self-protection of these bacteria, by the secretion of mold-altering inhibitory substances during storage.

Isolation and purification of lactic strains (Gram positive and negative catalase) were made by the use of the medium MRS broth and MRS agar.

Isolated colonies were identified by studying physiological, biochemical and morphological characteristics (Gram coloration, catalase test, pH test, thermoresistance, NaCl effect, growth on Sherman's milk).

The results obtained showed that the lactic acid bacteria isolated from wheat belong to the genera *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Leuconostoc*.

**Keywords:** Wheat, Lactic Bacteria, Isolation, Phenotypic Characterization.

## الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو عزل ,تميز و تحديد البكتيريا اللبنية المتواجدة على مستوى حبوب القمح اللين عن طريق دراسة العوامل الشكلية , الفيزيولوجية والبيوكيماوية للفطريات المتكاثرة على مستوى حبوب القمح.

تعتبر هذه الدراسة نقطة بداية لهدف فتح المجال حول البحث عن قدرة الحماية الذاتية الطبيعية لهذه البكتيريا عن طريق مواد لتثبيط الفطريات المسؤولة عن افساد القمح اثناء التخزين .

العزل والتنقية لسلاطات البكتيريا اللبنية (غرام موجب و catalase سالب ) قد تمت عن طريق استعمال وسائط الزرع ( MRS bouillon و MRS agar ).

المستعمرات المعزولة تم تحديدها عن طريق دراسة الخصائص الفيزيولوجية البيوكيماوية و الشكلية .

(coloration Gram, test catalase, test des pH, thermorésistance , effet de NaCl, croissance sur le lait de Sherman ).

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن البكتيريا اللبنية المعزولة من القمح تنتمي إلى الأجناس *leuconosto* و *Lactococcus* , *Streptococcus* , *Lactobacillus* , *Pediococcus* , *Enterococcus*,

الكلمات المفتاحية : قمح , بكتيريا لبنية , عزل , معايير ظاهرية.

## Liste des abréviations

**BL** : Bactérie Lactique.

**EMP** : Embden Meyerhoff Parnas

**EPS** : Exopolysaccharides

**Lb ou L** : *Lactobacillus*.

**Lc** : *Lactococcus*

**Ln** : *Leuconostoc*

**ONPG** : Ortho-Nitro-Phényl- $\beta$ -D-Galactopyranoside.

**PTS** : Système phosphotransférase phosphoénolpyruvate dépendant.

**G+C** : Guanine + Cytosine

**KDa**: KiloDalton.

**St** : *Streptococcus*.

**TSE** : tryptone sel eau

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Composition en acides aminés essentiels du grain de blé dur.....	P 7
<b>Tableau 2 :</b> Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs).....	P 8
<b>Tableau 3 :</b> Distribution de la vitamine du groupe B (g/100 grs) dans les différentes parties de grain de blé.....	P 9
<b>Tableau 4 :</b> Eléments minéraux du grain de blé.....	P9
<b>Tableau 5 :</b> Composition chimique d'un grain de blé.....	P 10
<b>Tableau 6 :</b> Profil physiologique et biochimique des souches isolées à partir de blé tendre et blé dur .....	P39
<b>Tableau 7:</b> Profil physiologique et biochimique des souches isolées à partir de blé fermenté 1 .....	P 40
<b>Tableau 8:</b> Profil physiologique et biochimique des souches isolées à partir de blé fermenté 2 .....	P 40
<b>Tableau 9:</b> Tableau représentatif de différents pourcentages des genres isolés à partir de blé tendre et blé dur et blé fermenté 1 et 2 .....	P 42

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Photos de l'épi de blé (gauche) et grains de blé dur (droit) avec une coupe transversale du grain montrant son aspect vitreux.....	P 3
<b>Figure 2</b> : Classification du blé .....	P 5
<b>Figure 3</b> : Coupe schématique représente la structure d'un grain de blé.....	P 5
<b>Figure 4</b> : Photo représente Silos de stockage en biton armé .....	P 15
<b>Figure 5</b> : Photo représente Silos de stockage en métal .....	P 15
<b>Figure 6</b> : Photo représente stockage en sacs .....	P 16
<b>Figure 7</b> : <i>Enterococcus faecalis</i> observé au microscope électronique .....	P18
<b>Figure 8</b> : <i>Lactobacillus casei</i> observé au microscope électronique.....	P 19
<b>Figure 9</b> : <i>Lactococcus lactis subsp lactis</i> observé au microscope électronique.....	P 20
<b>Figure 10</b> : <i>Leuconostoc mesenteroides</i> observé au microscope électronique .....	P 21
<b>Figure 11</b> : <i>Pediococcus</i> observé au microscope électronique .....	P 22
<b>Figure 12</b> : <i>Streptococcus thermophilus</i> , observé au microscope électronique.....	P 23
<b>Figure 13</b> : <i>Bifidobacterium sp</i> observé au microscope électronique .....	P 24
<b>Figure 14</b> : Différents types de fermentation.....	P 25
<b>Figure 15</b> : Aspect des coloniesensemencées en surface sur milieu MRS après 48h d'incubation à 37°C .....	P 37
<b>Figure 16</b> : Observation des coques lactiques à gauche, des bacilles lactiques à droite sous microscope optique après la coloration de Gram (10X100).....	P 38
<b>Figure17</b> : Répartition des bactéries lactiques (%) de Blé Tendre .....	P 41
<b>Figure 18</b> : Répartition des bactéries lactiques (%) de Blé dur .....	P 41
<b>Figure 19</b> : Répartition des bactéries lactiques (%) de Blé fermenté 1 .....	P41
<b>Figure 20</b> : Répartition des bactéries lactiques (%) de Blé fermenté 2.....	P 42

## Sommaire

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Sommaire

Introduction générale.....P1

### **Partie I : Synthèse bibliographique**

I. Généralités sur le blé ..... P 2

I. 1. Présentation du grain de blé ..... P 2

I.2.Origine géographique..... P 3

I.3. Origine génétique ..... P 4

II. Grain de blé..... P 5

II.1.Structure du grain de blé..... P 5

II.2.Composition morphologique..... P 6

II.3.Composition biochimique du grain de blé..... P 7

II.4.Flore biologique des grains de blé..... P 10

II.4.1. Flore bactérienne..... P 10

II.4.2. Flore Levurique..... P11

II.4.3.Flore fongique ..... P 11

II.4.4.Flore entomologique ..... P12

III. Transformation du blé..... P 12

IV. Production Algérienne du blé..... P13

V. Stockage du blé..... P13

V. 1.Système de stockage traditionnelle « MATMOURAS »..... P 13

V. 2.Stockage moderne ..... P 14

I. Généralités sur les bactéries lactiques .....	P 17
II. Habitat.....	P 17
III. Taxonomie des Bactéries Lactiques.....	P 17
IV .Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques.....	P 18
IV.1. Le genre <i>Enterococcus</i> .....	P18
IV.2. Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	P19
IV.3. Le genre <i>Lactococcus</i> .....	P 20
IV.4. Les genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i> .....	P 21
IV.5.Les genres <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i> .....	P 22
IV.6. Le genre <i>Streptococcus</i> .....	P 22
IV.7. Le genre <i>Bifidobacterium</i> .....	P 23
V. Métabolisme des bactéries lactiques .....	P 24
V.1. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques .....	P 24
V.1.1. La voie homofermentaire.....	P25
V.1.2. La Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate.....	P 26
V.1.3. La voie bifide ou FPC (Fructose 6- phospho- cétolase).....	P 26
VI. Besoins nutritionnels .....	P 26
VII. Applications industrielles des bactéries lactiques .....	P27
VII.1. Domaine alimentaire.....	P 27
VII.1.1. Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques.....	P 27
VII.1.2. Rôle dans la conservation.....	P 27
VII.2. Domaine de santé.....	P 27
VIII. Bactéries lactiques comme probiotiques.....	P 28
VIII.1. Définitions .....	P 28
VIII.2.Applications des probiotiques.....	P 28
VIII.3.Effet des probiotiques sur la santé humaine.....	P 28
IX. Les activités antimicrobiennes des bactéries lactiques.....	P 29
IX.1. Les acides organiques.....	P 29
IX.2. Le peroxyde d'hydrogène.....	P 29
IX.3. Le dioxyde de carbone.....	P 29
IX.4. Le diacétyle.....	P 29
IX.5. La reutéline.....	P30
IX.6. Les bactériocines.....	P 30
IX.6.1. Classification des bactériocines et mode d'action.....	P 30

IX.6.1.1. Classe I .....	P 30
IX.6.1.2 Classe II .....	P 31
IX.6.1.3. Classe III.....	P 31
IX.6.1.4.Classe IV .....	P 31
IX.6.2.Conditionnement des bactériocines.....	P 31
IX.6.3. Utilisation alimentaire des bactériocines.....	P31
IX.6.4. Applications médicales des bactériocines .....	P 31

## **Partie II : Matériels et méthodes**

I. Isolement des bactéries lactiques .....	P32
I.2. Préparation de la solution mère et dilutions.....	P 32
I.3. Ensemencement.....	P 32
II. Purification et pré-identification .....	P 32
II. 1.Examen macroscopique et microscopique.....	P 33
II. 2.Coloration de Gram .....	P 33
II. 3.Recherche de la catalase .....	P 33
II. 4.Recherche de l'oxydase.....	P 34
III. Conservations des bactéries lactiques .....	P 34
IV. Identification des bactéries lactiques.....	P 34
IV. 1.Etude physiologique et biochimique .....	P 34
IV. 1.1.Test de croissance à différentes températures.....	P34
IV. 1.2.Test des pH .....	P 34
IV. 1.3.Test Mannitol-Mobilité .....	P 35
IV. 1.4.Type respiratoire.....	P 35
IV. 1.5.Recherche du type fermentaire .....	P 35
IV. 1.6.Recherche de l'acétoïne .....	P 35
IV. 1.7.Production de dextrane .....	P 36
IV. 2.Croissance en milieu hostiles .....	P 36
IV. 2.1.Effet de NaCl .....	P 36
IV. 2.2.Thermorésistance.....	P 36
IV. 2.3.Résistance au tellurite .....	P36
IV. 2.4.Croissance sur le lait de Sherman .....	P 36

### **Partie III : Résultats et interprétation**

I. Isolement et caractérisation des bactéries lactiques .....	P 37
II. Identification des bactéries lactiques isolées.....	P 37
II.1.Aspect microscopique.....	P 38
II.2.Identification physiologiques et biochimiques.....	P 38
<b>Interprétation</b> .....	P 43
<b>Conclusion et Perspectives</b> .....	P 45
<b>Références Bibliographiques</b> .....	P 47
<b>Annexes</b>	

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Les céréales constituent la ressource alimentaire la plus importante au monde à la fois pour l'alimentation humaine et animale. Elles occupent une place stratégique dans l'alimentation de la population mondiale et en particulier dans les pays en développement. En effet, le blé (*Triticum* sp) est la céréale la plus cultivée par le monde et ses produits sont très importants dans la nutrition humaine, car ils fournissent un tiers des besoins en protéines et en énergie nécessaire pour un adulte (environ 2400kcal) (**Alfonso et al., 2013**).

En Algérie, les céréales et leurs dérivés constituent la base alimentaire de la population (pain, couscous et pâtes) et son stockage revêt une grande importance.

Cependant, les céréales, dont le blé, sont naturellement contaminées par des organismes eucaryotes (moisissures et levures) et procaryotes (bactéries). Cette flore microbienne forme un équilibre très fragile et peut altérer la qualité lors des différentes phases de préparation de la farine et les produits à base de farine, comme les aliments fermentés et les levains. Par ailleurs, l'équilibre de la population microbienne totale présente dans les grains de blé peut être affecté par de nombreux facteurs. Parmi les facteurs de ce déséquilibre, on cite les conditions climatiques, essentiellement la température et l'humidité et les conditions biotiques liées aux attaques par des insectes et des moisissures et l'application des pesticides. Parmi les microorganismes associés aux céréales, les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne et la stabilisation des produits finaux de la fermentation (**Caplice, 1999**).

Actuellement, les bactéries lactiques présentent un grand intérêt pour leurs valeurs nutritionnelles et thérapeutiques dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques. La connaissance de ces bactéries lactiques pourrait nous permettre de les utiliser dans la bioconservation, l'amélioration de la valeur nutritive des aliments et les préparations probiotiques. En effet, les bactéries lactiques sont considérées parmi la flore intestinale normale et jouent un rôle crucial dans le maintien et l'amélioration de la santé. Elles sont considérées comme des microorganismes à potentiel probiotique. Selon la F.A.O./OMS, (2002).

# **Généralités sur le blé**

## I. Généralités sur le blé

### I. 1. Présentation du grain de blé

Le terme blé vient probablement du gaulois blato (à l'origine du vieux français blaie, blee, blaiier, blaver, d'où le verbe emblaver, qui signifie ensemercer en blé) et désigne les grains qui broyés, fournissant de la farine, pour des bouillies (polenta), des crêpes ou du pain.

On trouve sous le nom de blé des espèces variées: le genre *Triticum* (du latin Tritus, us= broiement, frottement): le blé moderne (froment), l'orge (*Hordeum*) et le seigle (*Secale cereale*), le blé noir (sarrasin) (Yves & Buyer, 2000 ; Nedjah, 2015).

Les céréales sont un groupe des plantes annuelles cultivées, appartenant à la famille des *Poaceae* (Guignard & Dupont, 2004).

Cette famille, parmi toutes celles du règne végétal, occupe une place à part, non seulement par le nombre de ses espèce, mais encore son ubiquité, sa répartition et son intérêt humain, historique comme économique (Mosiniak et al., 2001 ; Alais et al., 2003 ; Guignard & Dupont, 2004).

Le blé est une plante herbacée monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des *Gramineae*. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments (Feuillet, 2000). Le genre *Triticum* appartient à la tribu des Triticées au sein de la famille des Poacées et plus largement au groupe des angiospermes monocotylédones (Bolot et al., 2009).

Le grain de blé se présente sous la forme d'un corps ovoïde dont les deux extrémités sont inégales, et qui offre sur l'une de ses faces un sillon. Sur la face dorsale de l'une des extrémités se trouve une légère dépression. Les membranes qui recouvrent le grain en ce point sont plus fines, plus blanches et plissées. Cette dépression, qui est plus ou moins étendue suivant les variétés de blé, correspond à l'embryon. A l'autre extrémité du grain se trouvent des poils plus ou moins nombreux et plus ou moins longs. Ces poils constituent la brosse (Kermiche, 2013).



**Figure 1 :** Photos de l'épi de blé (gauche) et grains de blé dur (droit) avec une coupe transversale du grain montrant son aspect vitreux (Ben Mbarek , 2017).

## I.2.Origine géographique

Trois céréales blé, riz et maïs constituent la base alimentaire des populations du globe. Durant le développement de la civilisation indo-européenne, le blé est devenu la principale céréale des peuples occidentaux sous climat tempéré (Hamidi , 2011).

La saga du blé accompagne celle de l'homme et de l'agriculture ; sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie (Oury, 2007 ; Gacem , 2011) .

Alors que, le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (Hamidi , 2011).

C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie, l'Europe et l'Egypte entre -7500 et -6200 (Leplat , 2012).

La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile.

En Algérie, **Léon Ducelier (1878-1937)** en particulier, Parcourant le blé, fit au début du siècle le recensement d'une flore mal connue. Il découvrit et analysa les nombreuses variétés, qui peuplaient les champs cultivés, recueillit les échantillons les plus caractérisés, les plus productifs, les plus résistants à la sécheresse ou à quelques maladies. Le blé tendre était inconnu en Afrique du Nord avant l'arrivée des français (Leplat, 2012).

Cette ressource à d'abord été utilisée par l'homme, il y a plus de 10000 ans, grâce à la cueillette dans les espaces sauvages. Entre -8900 et -7500, la culture du blé a été instituée passant d'un usage sauvage de la plante à un usage domestique.

Le blé est la deuxième plante cultivée au monde en termes de quantités (653 millions de tonnes en 2010), derrière le maïs (826 millions de tonnes), et la première en termes d'échanges commerciaux (125 millions de tonnes échangées en 2010). Ses produits dérivés sont omniprésents dans l'alimentation humaine notamment à travers l'utilisation de la farine, la consommation de pâtes alimentaires.

### I.3. Origine génétique

Génétiquement, il existe plusieurs types de blé :

*Triticum monococcum* est un blé diploïde ( $2n = 14$  chromosomes), connu également sous le nom d'engrain. L'engrain est un blé épeautre qui n'est pratiquement plus cultivé dans nos contrées. D'un rendement faible, il est en revanche très résistant aux maladies. Ce type de froment doit être débarrassé de sa balle ou émondé (décortiqué) avant la mouture (**Schmerikon , 2004**).

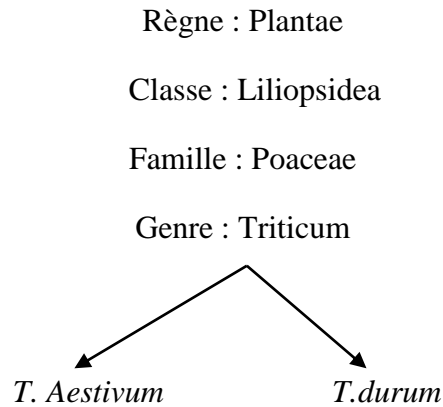
Par contre *Triticum dicoccum* est un blé tétraploïde ( $2n = 28$  chromosomes), dont l'espèce *Triticum durum* qui joue surtout un rôle en tant que matière première pour la fabrication des pâtes alimentaires, et également *Triticum dicoccum ssp.* ( **Elagrouz , 2013**).

Le blé Emmer ou amidonnier (*Triticum turgidum ssp* ) , un blé anglais , et le *Triticum polonicum ssp* . Un blé polonais, qui peuvent encore avoir une importance régionale sont à nouveau employés pour effectuer des croisements ou en tant qu'espèces « primitives » (**Hennouni , 2012**).

*Triticum aestivum* , un blé hexaploïde , englobe de nos jours , deux espèces importantes qui sont *Triticum aestivum ssp .vulgare* (blé commun ou tendre , blé de panification ) et le *Triticum spelta* (grand épeautre ) (**Hennouni , 2012**).

Il existe néanmoins une large diversité d'espèces, plus rustiques, cultivées localement et historiquement dans différentes régions du monde et représentant un réservoir de ressources génétiques intéressant pour les sélectionneurs (**Ouanzar , 2012**).

## ▪ Systématique

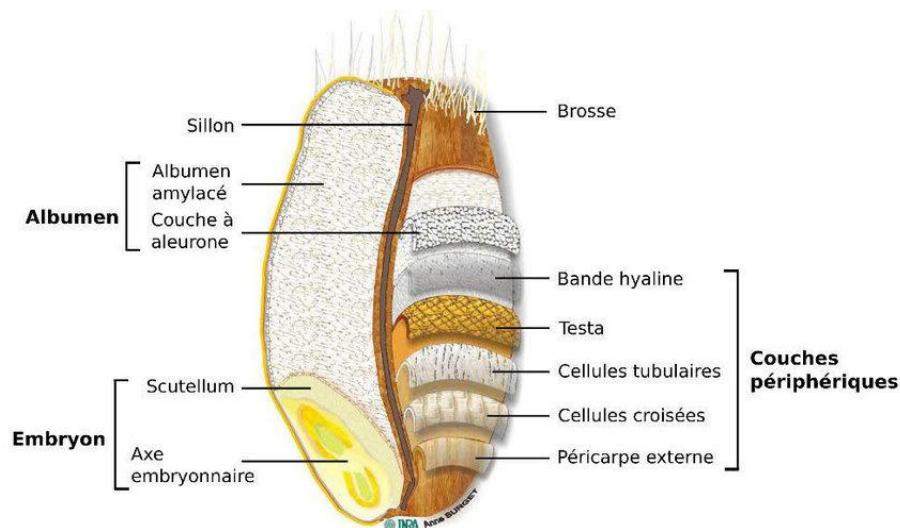


**Figure 2** : Classification du blé (Moule, 1980).

## II. Grain de blé

### II.1. Structure du grain de blé

Physiologiquement, le grain des Poacées est un caryopse blanc ou roux, ovoïde, pesant de 35 à 45 mg (le grain est soudé aux parois de l’ovaire) jouant le rôle d’un fruit renfermant une graine, (cotylédon qui représente 82 à 85% du grain) (Godon, 1991). Le grain de blé est formé de trois parties (Figure 3) : l’enveloppe ou le son (13%), l’albumen (84%) et le germe (3%) (Boudreau & Ménard, 1992).



**Figure 3** : Coupe schématique représente la structure d’un grain de blé (Surget & Barron, 2005).

- Enveloppes de la graine et du fruit :

C'est la pellicule cellulosique qui protège le grain pendant sa formation dans l'épi, pendant la levée dans le sol ainsi qu'au cours de sa conservation (**Berhaut et al., 2003**).

- L'Album

Il représente 80 % du grain de blé (**Roudaut & Lefrancq, 2005**). L'albumen constitue la réserve de stockage de la plante nécessaire pour la germination jusqu'à ce qu'elle émerge du sol et en mesure de commencer la photosynthèse (**Salman et al., 2007**).

Il se compose d'un mélange intime de protéines et d'amidon. Les protéines sont présentes sous forme de particules discrètes et comme un matériel interstitiel. Différentes protéines sont présentes dans l'albumen mais les quatre principaux groupes des protéines sont les gliadines, les gluténines, les albumines et les globulines (**Cauvain, 2003**).

L'albumen est constitué de deux tissus bien distincts: la couche à aleurone et l'albumen amylicé plus interne. La couche à aleurone, riche en protéines et en lipides, renferme en outre d'importantes quantités de micronutriments (minéraux). L'albumen amylicé est constitué d'amidon enchâssé au sein d'une matrice protéique plus ou moins dense (**Surget & Barron, 2005**).

- Le germe

Le germe est la partie du grain où le taux d'humidité et la concentration en lipides sont les plus importantes (**Pomeranz, 1988**). Il donne naissance à une nouvelle plante. Il est particulièrement riche en huile et en albumine (**Gwimer et al., 1996**).

## II.2.Composition morphologique

Morphologiquement le blé dur se différencie du blé tendre (**Olmedo, 1995; Soltner, 2005**) le grain de blé dur est gros, de section triangulaire très riche en albumen et de texture vitreuse (**Soltner, 2005 ; Hardia, 2006**). Il possède un système racinaire assez développé par rapport à celui du maïs ou graminée (**Prats & Grandcourt, 1971 ; Soltner, 2005 , Hadria, 2006**).

Physiologiquement le grain est constitué par le germe qui donne la plantule, l'amande appelée Endosperme ou albumen, tissu de stockage qui fournit au germe les réserves nécessaires pour sa Croissance et les enveloppes protectrices ou son, composée par la paroi de la graine (testa) et par La paroi du fruit (péricarpe) (**Doumandji et al, 2003**).

### II.3.Composition biochimique du grain de blé

Le grain de blé est principalement constitué d'amidon (environ 70 %), de protéines (10 à 15 %) et de pentosanes (8 à 10 %) ; les autres constituants, sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (Feillet, 2000).

- **Protéines**

Les grains de blé renferment un grand nombre de protéines : des protéines de structure, des protéines biologiques actives et des protéines de réserve. Ces protéines ne sont pas réparties dans le grain de blé uniformément, elles sont surtout localisées dans le germe et l'assise protéique. Les protéines sont les seuls composés responsables à la fois de l'extensibilité, ténacité, élasticité et cohésion de la pâte. Parmi les différents types de protéines du blé, le gluten est le plus important tant du point de vue quantitatif (80-85% des protéines totales) que technologique (Benhania, 2013).

Composition en acides aminés essentiels : Selon Brink & Belay , 2006, le grain de blé dur est déficitaire en certains acides aminés comme le tryptophane et la méthionine et dans certaine mesure en Lysine et en Thréonine (Tableau 1).

**Tableau 1** : Composition en acides aminés essentiels du grain de blé dur (Brink & Belay, 2006).

Acides aminés	Composition en mg/100g
Tryptophane	176
Lysine	303
Méthionine	221
Phénylalanine	681
Valine	594
Théonine	366
Leucine	934
Isoleucine	533

### ▪ Glucides

Selon **Manay & Shadaksharaswamy, 2001** ; **Dunford, 2012**, Les glucides présentent 60 à 80 % de la matière sèche du grain de blé. L'amidon est le glucide principal trouvé dans l'albumen, les sucres (oses, dioses et trioses) sont présents dans le germe, les glucides des enveloppes sont principalement la cellulose et l'hémicellulose (**Tableau 2**).

**Tableau 2** : *Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs) (Manay & Shadaksharaswamy, 2001).*

Glucides	Albumen	Germe	Enveloppes
Amidon	95.8	31.5	14.1
Sucres	1.5	36.4	7.6
Cellulose	0.3	16.8	35.2
Hémicellulose	2.4	15.3	43.1

### ▪ Lipides

Les lipides du blé sont un mélange complexe de composants. Ils sont inégalement répartis dans les différentes parties du grain de blé. Le tiers de la fraction lipidique total est situé dans le germe. Plus de 20 classes de lipides existent dans le grain de blé et peuvent être divisées en deux groupes, les lipides polaires et non polaires.

Les triglycérides sont les principaux lipides non polaires qui représentent environ 50 % des lipides non polaires totaux dans le blé. Ils sont déposés en sphérosomes (gouttelettes d'huile) délimités par une membrane monocouche (**Oury, 2007**).

### ▪ Vitamines et Minéraux

Selon **Vierling, 2008**, la seule vitamine liposoluble présente dans le grain de blé est la vitamine E, la vitamine C est quasi absente. Le blé est une source intéressante en vitamines du groupe B qui sont inégalement réparties dans les différentes parties du grain (**Tableau 3**). Les minéraux formant une petite partie du grain de blé, et en proportion encore plus faible dans l'albumen moins de 1% (**Matz, 1991**).

**Tableau 3** : Distribution de la vitamine du groupe B (g/100 grs) dans les différentes parties de grain de blé (Manay & Shadaksharaswamy, 2001).

	Thiamine B1	Niacine B3	Riboflavine B2	Acide pantothénique B5
Péricarpe , Testa, bande hyaline	1	4	5	8
Couche à aleurone	31	84	37	39
Albumen	3	11.5	32	41
Scutellum	62.5	1	14	4
Embryon	2	1	12	3.5

Le blé contient du fer, du magnésium, du manganèse, du cuivre et du zinc ... (Tableau 4). Ces constituants sont distribués principalement dans les couches extérieures et dans le germe (Manay & Shadaksharaswamy, 2001).

**Tableau 4** : Eléments minéraux du grain de blé (Kermiche, 2013).

	Grain entier	Germe	Albumen	Couche à aleurone
Total %	0.42	1.66	0.11	1.39
Zn (ppm)	40.4	222	14.1	119
Fe (ppm)	54.6	235	21.5	186
Mn (ppm)	56.4	402	8.80	130
Cu (ppm)	4.25	18	2.8	12
Ca (ppm)	335	1760	173	730
Mg (ppm)	0.15	0.54	0.02	0.58
K (ppm)	0.37	0.91	0.12	1.10

#### ▪ L'eau

Les grains sont naturellement peu hydratés, leur teneur en eau varie avec le taux d'humidité de l'air. L'équilibre se situe entre 13 et 15%. Du point de vue chimique et physique, son action solvant favorise les réactions enzymatiques et les attaques microbiennes lorsque sa teneur dans le grain dépasse le seuil d'équilibre (Feillet, 2000).

**Tableau 5 : Composition chimique d'un grain de blé (Feillet, 2000).**

	Eau	Glucides totaux %	Matière protéique %	Matière grasse %	Matière minérale %
Blé entier	13	68 - 72	10	1.5 - 2	1.7 - 2.1
Enveloppe	13	65 - 68	17 - 19	4 - 5	6 - 7
Amande farineuse	13	74 - 76	9 - 12	0.7 - 1	0.4 - 0.5
Germe	13	37 - 43	22- 32	15 - 18	4 - 5

## II.4.Flore biologique des grains de blé

Depuis le moment de leur initiation au sein de l'épi jusqu'au passage au moulin ou à l'usine, les grains de blé sont soumis à des proliférations de bactéries, de levures, de moisissures ou de parasites. Pendant la conservation, la microflore du grain à l'origine et celle des produits de mouture subissent des modifications au cours du temps. (Kermiche, 2013).

### II.4.1. Flore bactérienne

Elles proviennent essentiellement du sol, peuvent être identifiées suivant les critères actuels de la classification. Elles se rangent principalement dans les familles suivantes : *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*), *Xanthomonadaceae* (*Xanthomonas*), *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Bacillaceae* (Feillet, 2000).

Heureusement, les grains ne constituent pas un milieu favorable pour les germes pathogènes ou toxigènes comme *Salmonella*, *Clostridium* ou *Staphylococcus* (Belyagoubi, 2014).

À la récolte, les produits céréaliers sont toujours faiblement contaminés par les *Streptomycetaceae*, microorganismes que l'on connaît surtout pour leur aptitude à produire des antibiotiques, et dont les principaux représentants sur grains semblent être : *Streptomyces albus* et *Streptomyces griseus* (Kermiche, 2013).

## II.4.2. Flore Levurique

### ▪ Flore des champs

Les populations de levures (champignons microscopiques le plus souvent unicellulaires et non pigmentés) dépendent fortement des conditions climatiques au moment de la récolte. Les genres rencontrés sont : *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Pichia* ne donnent généralement lieu qu'à de faibles niveaux de contamination, ne dépassant que rarement quelques centaines de germes par gramme de grain. Au contraire, des quantités élevées des levures sont souvent le signe d'une humidité élevée à la récolte et /ou d'un pré-stockage humide avant séchage (Kermiche, 2013).

### ▪ Flore de stockage

Selon Petersson & Schnürer , 1995) ; Druvefors & Schnürer , 2004, La levure *Pichia anomala* est fréquemment trouvée pendant le stockage étanche à l'air du blé. Cette levure est un moyen de lutte contre certains champignons d'altération du blé stocké tels que *Penicillium roqueforti* et *Aspergillus candidus*.

En outre, le degré d'inhibition des champignons d'altération est lié à la concentration des cellules de cette levure (Kermiche, 2013).

## II.4.3. Flore fongique

### ▪ Flore des champs

Les grains de blé sont contaminés par les microorganismes dans le champ, et cette microflore est dominée par des moisissures (Deàk, 2008). Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage (Dendy & Dobraszczyk, 2001).

Les genres rencontrés sont: *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus* et *Stemphylium* (Kermiche, 2013). Cette flore est bien adaptée à des changements rapides des conditions dans le champ. Elle exige des activités en eau relativement élevées pour une croissance optimale (Adams & Moss, 2008).

En fonction des conditions précises, ces champignons peuvent mourir lentement au cours du stockage ou peuvent survivre pendant de longues périodes. La survie est plus longue à basse température et à faibles niveaux d'humidité (Roberts, 2005).

### ▪ Flore de stockage

Les moisissures des grains de blé stockés sont présentes sous forme de mycélium dormant sous le péricarpe ou spores en dormance sur la surface du grain. Cependant, un certain nombre de moisissures sont superficiellement associées aux grains stockés. Les principaux genres rencontrés sont : *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leurs capacités de se développer sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (Mathew et al., 2011).

### II.4.4.Flore entomologique

Un grand nombre de ravageurs du blé, incluant des limaces, des pucerons, des nématodes, des cécidomyies, des larves de tipules, peuvent avoir un impact plus ou moins important sur le rendement et la qualité des récoltes. Par exemple, la jaunisse nanisante de l'orge (J.N.O), qui peut également affecter le blé, est une maladie véhiculée par des pucerons, entraînant des anomalies des parties aériennes de la plante (au niveau de l'épi) ainsi que des malformations des grains (Forget et al., 2012).

Les zabres sont des insectes dangereux à tous les stades de leur développement ; la larve remonte de la terre pendant la nuit et dévore les parties inférieures du pied de blé ; les adultes s'attaquent aux grains et peuvent causer de grandes pertes de production.

Des ravageurs des récoltes stockées existent également, l'un des principaux exemples étant le charançon dont les larves rongent les grains. En plus des pertes de rendement, les insectes causent des blessures qui favorisent les infections fongiques (Boutigny, 2007).

## III. Transformation du blé

On distingue deux espèces de blé: le blé tendre et le blé dur. Ces deux espèces, se différencient par la friabilité de l'amande. L'amande du blé tendre est blanche et friable, tandis que celle du blé dur est jaune et plus dure (Feillet, 2000 ; Jeantet et al., 2007).

Au moulin, les graines de blé tendre sont broyées en farine, celles-ci servent à la fabrication de pains, de biscuits, de pâtisseries, de pizzas, de viennoiseries. A la semoulerie, les grains de blé dur sont broyés en semoules, ceux-ci servent à la fabrication de pâtes et de couscous c'est la transformation des graines (Nedjah, 2015).

## IV. Production Algérienne du blé

Parmi toutes les espèces céréalières, les blés représentés respectivement par le blé dur et le blé tendre sont considérées comme les produits alimentaires les plus importants pour une large part de la population algérienne (**Benbelkacem, 2007**).

En Algérie, les céréales constituent la base de l'alimentation elles présentent à elles seules 73.6% de l'apport calorique globale et fournissent en moyenne 80% des protéines totales consommées, la semoule issue du blé dur serait à l'origine de produits alimentaires de très divers plats et aliments traditionnels : couscous, pain, galette, pâtisserie, (**Feuillet, 2000; Jeantet et al., 2007**) frik, pâtes divers et gâteaux traditionnels (**Selmi, 2000**).

En Algérie, la superficie réservée à la céréaliculture est, en 2015, de 3,3 millions d'hectares qui représentent 90% des terres cultivées. 40% de cette surface sont destinés à la production du blé dur. Ces rendements, restent très bas puisqu'ils ne tournent qu'autour de 10 à 15Qx/ha, malgré les efforts fournis pour répondre aux besoins alimentaires de la population qui est toujours croissante. Cette faible production est souvent expliquée par l'influence des mauvaises conditions pédoclimatiques associées, notamment à: la désertification, l'érosion, la pollution, les mauvaises pratiques agricoles, stress hydrique et la salinisation des sols (**Nedjah, 2015**).

## V. Stockage du blé

A travers l'histoire, le stockage des grains des blés a fourni à des humains un amortisseur contre l'échec et la famine de récolté (**Druvefors, 2004**).

### V. 1. Système de stockage traditionnelle « MATMOURAS » :

L'homme fait des efforts pour améliorer les conditions de stockage depuis MATMORAS jusqu'aux silos modernes (**Mokhtari, 2007**).

Les entrepôts souterrains destinés au stockage des grains est une pratique traditionnelle, très ancienne et largement utilisée dans certaines régions du Maroc sous le nom vernaculaire de MATMOURA. Ce mode de stockage est aussi utilisé dans plusieurs pays de l'Afrique, au Proche Orient, en Asie et en Algérie, le paysan algérien, sur les Hautes plateaux, conservait le produit de ses champs de blé (**Kermiche, 2013**).

Enceintes creusées dans un sol argileux sous forme sphérique tronconique, généralement à un endroit surélevé ou proche de la ferme. La capacité de ces lieux de stockage est variable. Pour

la construction et la protection du grain stocké contre les fluctuations de température extérieure (Mokhtari, 2007).

Cependant ce type de stockage est parfois responsable de la fermentation des grains subit avec le temps une fermentation spécifique en raison de la composition biochimique du grain d'une part et d'autre part des conditions climatiques et la nature de matériaux utilisés pour la confection du MATMOUR. La fermentation peut durer 4-9 ans. L'humidité constitue un facteur important pour le développement de certaines bactéries responsables de la fermentation des grains. La température, lorsqu'elle est assez élevée, peut favoriser la prolifération des microorganismes présents dans la masse des céréales. L'augmentation de la température peut être d'origine biologique ou climatique. L'échange de la chaleur entre le stock et le milieu extérieur se fait à travers les parois et les ouvertures (Kermiche, 2013).

Le MATMOUR est fermée, ceci crée une atmosphère confinée autour des grains favorisant le développement des microorganismes anaérobies (Kermiche, 2013). Ces lieux de stockage est variable (Mokhtari, 2007).

L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage, est la trop forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des microorganismes et les phénomènes de fermentation bactérienne (Doumandji et al., 2003).

## V. 2. Stockage moderne

Les modalités techniques ont varié avec les époques et lieux. Les enjeux sont toujours restés les mêmes et l'évolution technique a surtout permis une augmentation des capacités de stockage et une accélération des échanges. De nos jours les silos modernes permettent de stocker plusieurs types de céréales en même temps (Doumandji et al., 2003).

- Les silos en béton armé

Ils sont généralement de très grandes capacités, caractérisés par de fortes hauteurs de l'ordre de 50 à 70 m et peuvent même atteindre des hauteurs de 100 m sans difficultés de réalisation (Reimbert, 1982). Ils se prêtent bien à l'utilisation comme silos portuaires du fait de leur bonne résistance à la corrosion (Figure 4).

- Les silos métalliques

Selon la forme géométrique des cellules et la nature des parois métalliques, on distingue plusieurs types des silos métalliques (Ait Bella & Arabie, 1993) (Figure 5).

- Stockage en sacs

C'est la plus économique, se fait dans des sacs empilés sur des palettes (**Appert, 1985**) (**Figure 6**).



**Figure 4** : Photo représente Silos de stockage en biton armé (**Kermiche, 2013**).



**Figure 5** : Photo représente Silos de stockage en métal (**Kermiche, 2013**).



**Figure 6 :** *Photo représente stockage en sacs (Kermiche, 2013).*

# **Les bactéries lactiques**

## I. Généralités

Les bactéries lactiques sont décrites pour la première fois par Orla Jenson au début du vingtième siècle et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (Novel, 1993).

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de microorganismes, produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. En dehors de ce trait commun, les nombreux genres et espèces qui constituent ce groupe présentent une grande diversité de caractéristiques morphologiques. Cela se traduit par l'existence au sein des espèces, de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes (Desmazeaud, 1996).

Les bactéries lactiques colonisent de nombreux produits alimentaires, comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale. (Stiles *et al*, 1997. Klaen hamer *et al.* , 2005).

Les bactéries lactiques sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires et sont de ce fait largement utilisées en tant que starters dans les produits alimentaires fermentés, ou elles permettent de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation (Abée, 1995 ; Hugenholtz *et al.*, 1999).

## II. Habitat

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux ou des alimentsensemencés par les végétaux. Elles se développent avec la levure dans le pain, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveau & Bouix, 1993; Hassan & Frank, 2001).

## III. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début XXe siècle (1919), les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (Lahtinen *et al.* 2012).

La monographie d'Orla-Jensen(1919) a constitué la base de la classification des bactéries lactiques, les critères utilisés ( morphologie cellulaire, types fermentaire, les températures de croissance et l'utilisation des sucres), bien que l'avènement d'outils taxonomiques plus modernes, les méthodes biologiques en particulier moléculaires, ont considérablement

augmenté le nombre de genres de bactéries lactiques à partir des quatre genres : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (Lahtinen et al. 2012).

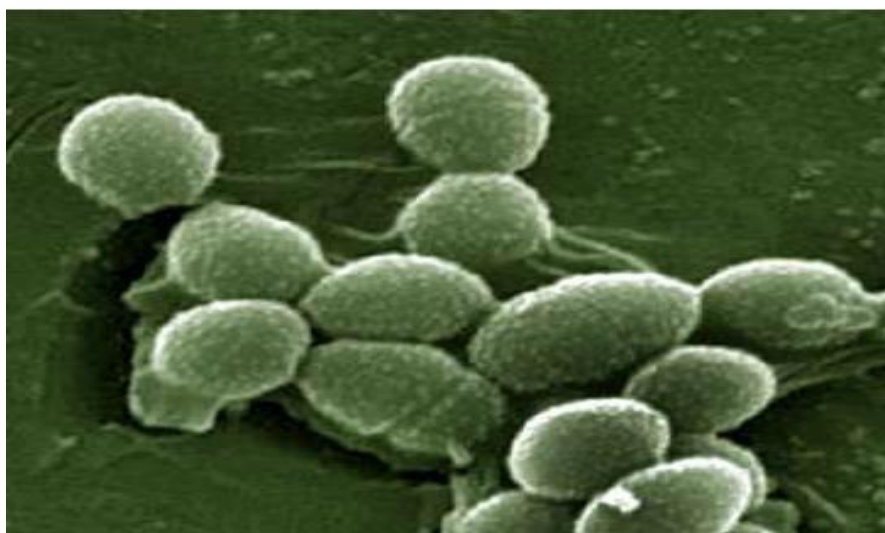
Une importante étape a été franchie en 1977 par Woese et Fox qui ont introduit la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques. Cette méthode a révolutionné la taxonomie des bactéries et la classification des bactéries lactiques a été profondément modifiée. D'autres méthodes génotypiques (basés sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification ; comme le pourcentage en GC de l'ADN ou l'hybridation ADN : ADN (Salminen et al. 2004).

#### IV. Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques

Parmi ces genres, seulement douze sont utilisés dans le domaine de la biotechnologie, il s'agit de :

##### IV.1. Le genre *Enterococcus*

Les *Enterococcus* représentent le groupe des entérocoques, ils sont composés de *Streptocoques fécaux* (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*). Ce genre comprend des cellules ovoïdes isolées, en paires ou en courtes chaînes. Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Zhang & Cai, 2014). Les entérocoques peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Tamime, 2002 ; Ho et al., 2007).



**Figure 7 :** *Enterococcus faecalis* observé au microscope électronique (Wallace et al, 2003).

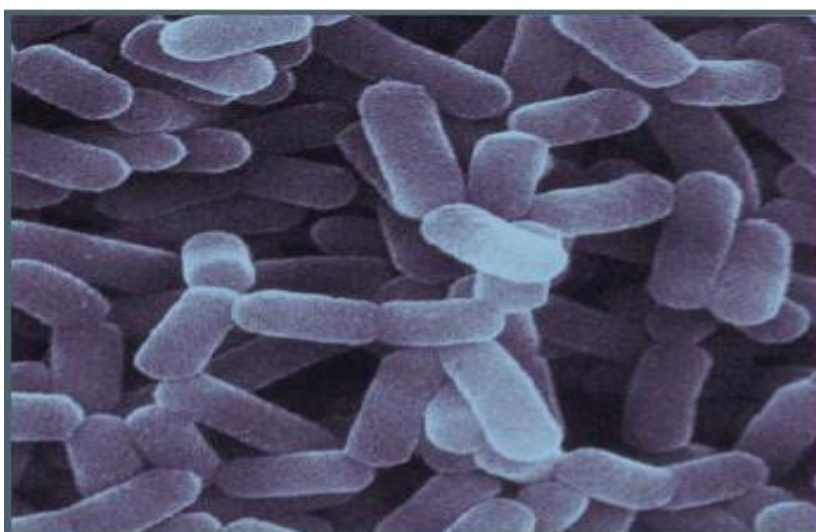
## IV.2. Le genre *Lactobacillus*

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développant à un optimum de température situé entre 30 et 40°C.

Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (**Khalid & Marth, 1990 ; Leclerc et al. 1994**).

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

- **Groupe I** « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.
- **Groupe II** « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakeet* *Lb. plantarum*.
- **Groupe III** « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. Breviset* *Lb. anfrancisco*.



**Figure8** : *Lactobacillus casei* observé au microscope électronique  
(Corrieu & Luquet, 2008).

### IV.3. Le genre *Lactococcus*

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis* ssp. *Lactisbiovar .Diacetylactis* produit le diacétyle.

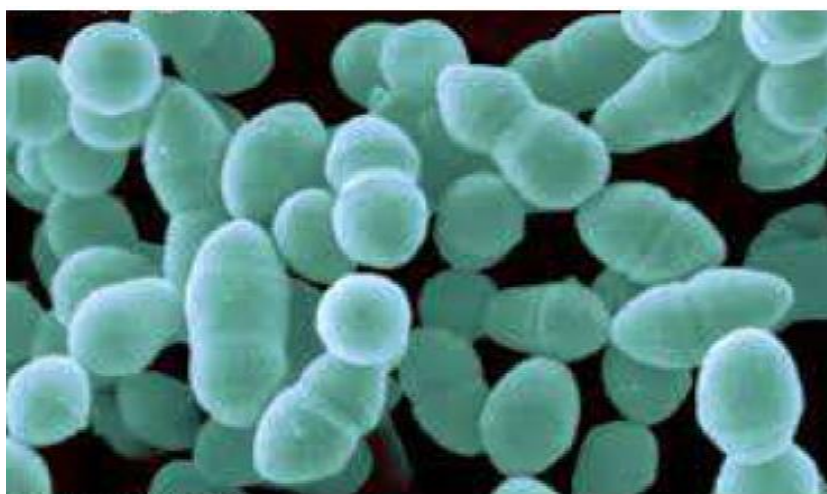
Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable à se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables à se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

Elles se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits (Zhang & Cai, 2014).

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. Lactis* ssp. *lactis*, *Lc. Lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. Lactis* ssp. *Hordniae* (Pot et al., 1996 ; Pot, 2008). Selon Guiraud 1998, le genre *Lactococcus* est représenté par les espèces suivantes : *Lc. Lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. Lactis* ssp. *Lactis* et *Lc. diacetylactis*.

La sous espèce *Streptococcus Lactis* ssp. *diacetylactis* est remplacée par la sous espèce *Lactococcus Lactis* ssp. *Lactis*.

Le lait est un habitat privilégié des lactocoques (Dellaglio et al., 1994 ; Corroler et al., 1999). *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus étudiée et la plus fréquemment détectée dans les laits crus (Corroler et al., 1998 ; Dalmasso et al., 2008)



**Figure 9 :** *Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

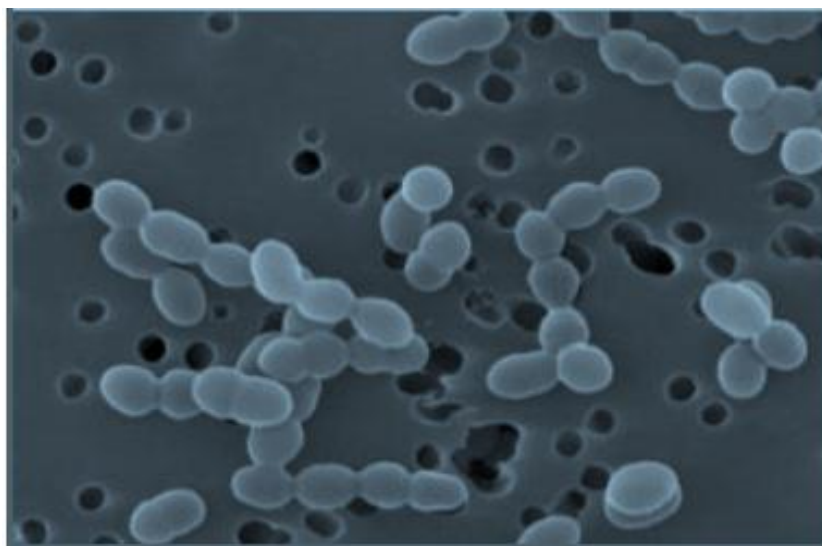
#### IV.4. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrane, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et à température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* comprend quatorze espèces, ils sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Le développement des *leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides.

Les *leuconostoc* principalement *Ln. Mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. Lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan & Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée de vins a été classée dans un nouveau genre, *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles & Holzappel, 1997).

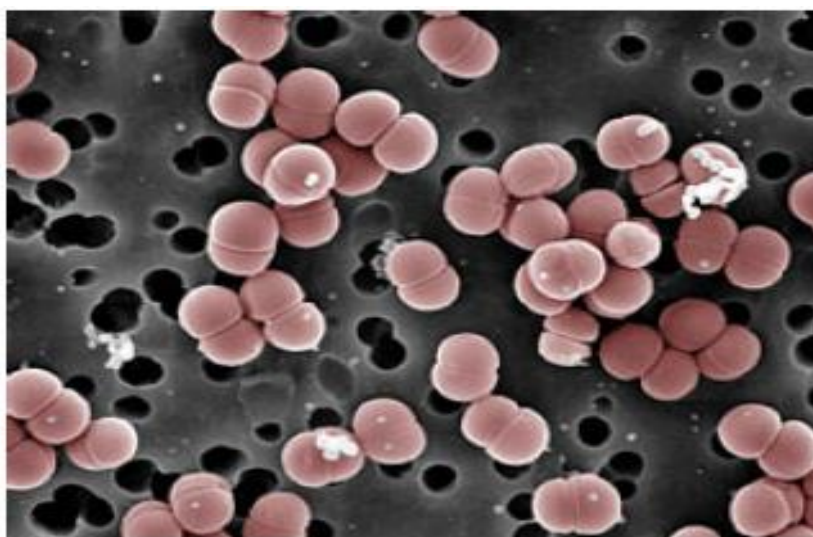


**Figure 10 :** *Leuconostoc mesenteroides* observé au microscope électronique (Wallace et al., 2003).

#### IV.5. Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapables d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet et al., 2005).

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les pedicocques sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud & Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005).



**Figure 11 :** *Pediococcus* observé au microscope électronique (Wallace et al., 2003)

#### IV.6. Le genre *Streptococcus*

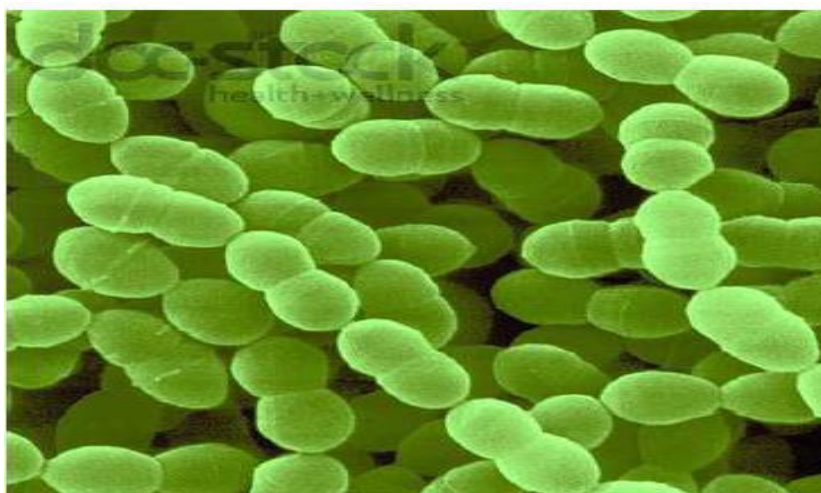
Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer, 1987). Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues.

La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Le peptidoglycane est du groupe A et leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables à se développer à 15°C et à pH: 9,6.

Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes.

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais en suite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles & Holzapfel., 1997).

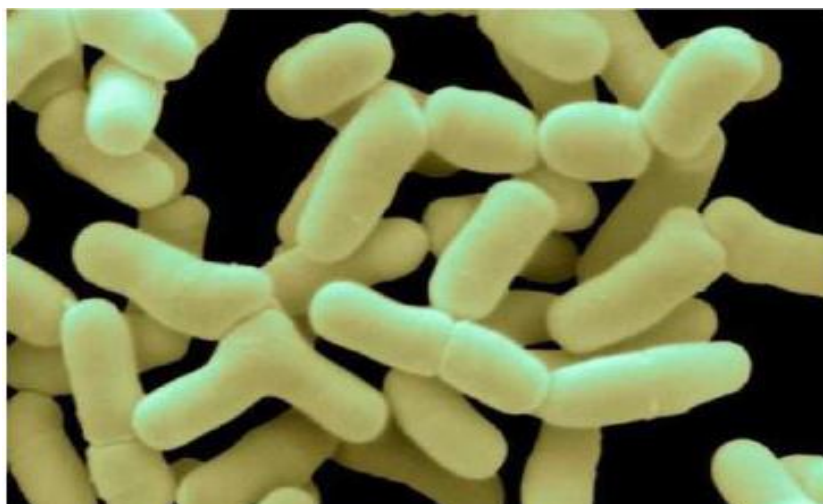
*Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *St. Thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (Hadie, 1986 ; Pilet et al., 2005).



**Figure 12 :** *Streptococcus thermophilus*, observé au microscope électronique (Corrieu & Luquet, 2008).

#### IV.7. Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G +C. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Axelsson et al., 2004 ; Pilet et al., 2005 ; Ho et al., 2007).



**Figure 13 :** *Bifidobacterium sp* observé au microscope électronique  
(Wallace et al., 2003).

## V. Métabolisme des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent des microorganismes appartenant à plusieurs genres ayant la capacité de fermenter les sucres en acide lactique. Les sucres peuvent être des monosaccharides tels que les hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), des hexitols ou des pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des dissaccharides (lactose, saccharose, cellobiose, maltose, tréhalose). La capacité à métaboliser les sucres est fonction des souches considérées. En règle générale, le produit final prédominant est l'acide lactique (50% de carbone de sucre). Il est clair, cependant, que les bactéries lactiques s'adaptent à diverses conditions en changeant leur métabolisme par conséquence. Cela peut conduire à former différents modèles de produits finis (Axelsson, 2004).

### V.1. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (Atlan et al., 2008) :

- Le transport du sucre à travers la membrane cellulaire.
- Le catabolisme intracellulaire du sucre.
- Formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Pour pénétrer dans la cellule, les sucres doivent d'abord franchir la membrane cellulaire qui possède une perméabilité sélective : elle laisse passer les composés apolaires par diffusion mais se révèle imperméable aux composés polaires hydratés. Deux systèmes de transport actifs des sucres sont présents chez les bactéries lactiques : le système phospho-transférase phospho-énol-pyruvate dépendant (PTS), qui couple le transport et la phosphorylation du

glucide (phosphorylation en cascade), et le système perméase énergie-dépendant, qui fait pénétrer les glucides sous forme de sucres libres (Thompson, 1987).

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homo-fermentaire (Embden-Meyerhof-Parnas, EMP) et hétéro-fermentaire (voie des pentoses-phosphate) (Atlan et al., 2008).

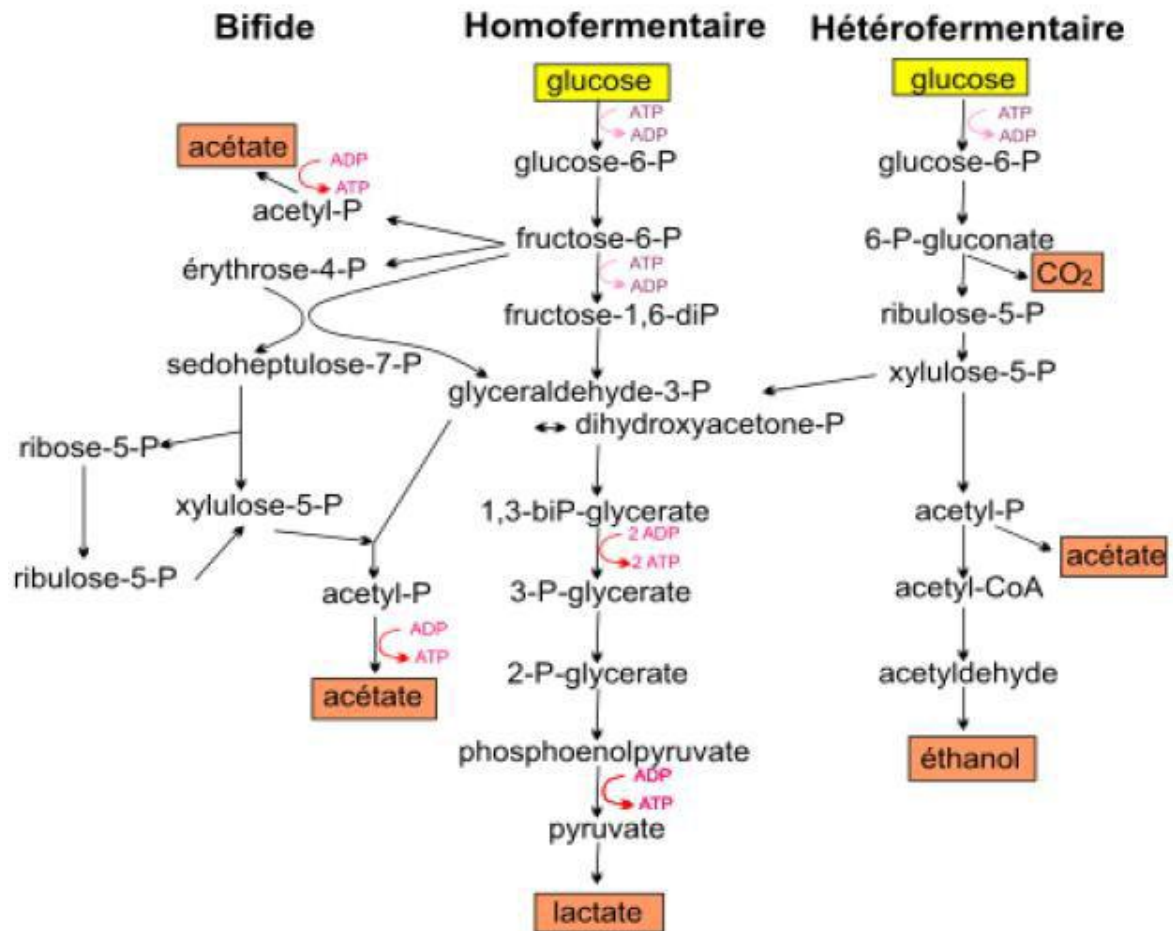


Figure14 : Différents types de fermentation (Axelsson, 2004).

### V.1.1. La voie homo-fermentaire

La voie homofermentaire emprunte la glycolyse dans sa totalité (du glc-6-P jusqu'au pyruvate) et est généralement associée aux bactéries des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, et *Lactobacillus*. La glycolyse conduit, en conditions optimales de croissance, à la production de 2 molécules de lactate et 2 molécules d'ATP par molécule de glucose. Ce métabolisme est qualifié d'homolactique lorsqu'au moins 90% du glucose consommé est converti en lactate. La fructose-1,6-biphosphatase (FBA) est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie EMP (Thompson & Gentry-Weeks, 1994). En conditions de croissance non optimales (limitation de carbone ou certains sucres), le

métabolisme des bactéries homo-fermentaires peut se diversifier vers un métabolisme appelé mixte, avec production, en plus du lactate, de formiate, ou/de CO<sub>2</sub>, d'acétate et d'éthanol (Cocaign-Bousquet et al., 1996). Cette fermentation est essentiellement réalisée par les entérobactéries (*Enterococcus sp.*).

### V.1.2. La voie hétéro-fermentaire ou voie des pentoses phosphate

Les principaux groupes de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* telles que *Leuconostoc mesenteroides* (*Ln. mesenteroides*) et *Leuconostoc pentosaceus* et certains *Lactobacillus* tels que *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermenti*. Ce groupe de bactéries dégrade les hexoses en empruntant la voie hétérofermentaire communément appelée voie des pentoses phosphate qui conduit à la formation d'une molécule d'acide lactique, d'une molécule d'éthanol et d'une molécule de CO<sub>2</sub> (Kandler, 1983). Les sucres à cinq atomes de carbone ou pentoses, comme le fructose, peuvent parfois être fermentés et donnent alors une molécule d'éthanol et une molécule d'acide lactique. Outre ces produits, qui représentent plus de 80% des métabolites obtenus, on obtient également de l'acide acétique et du glycérol.

Chez les bactéries hétérofermentaires et selon les conditions environnementales, le pyruvate peut aussi former d'autres composés, comme l'acétate, l'éthanol ou encore des composés responsables des arômes des produits laitiers (diacétyl, acétoïne, 2,3-butanediol,  $\alpha$ -acétolactate) (Loubiere & Cocaign-Bousquet, 2009).

### V.1.3. La voie bifide ou FPC (Fructose 6- phospho- céto-lase)

Le genre *Bifidobacterium* suit une voie de fermentation particulière appelée voie bifide. Le bilan net de cette voie bifide est 1,0 mole de lactate, 1,5 mole d'acétate et 2,5 moles d'ATP par mole d'hexose, ce qui est légèrement supérieur au rendement de la glycolyse en terme énergétique (Thompson & Gentry-Weeks, 1994).

## VI. Besoins nutritionnels

Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de leur environnement. Elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligoéléments dont le rôle des coenzymes est plus important (Lenoir et al., 1992 ; Guetarni, 2013).

**-Vitamines:** jouent un rôle primordial dans le métabolisme cellulaire. Les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser des vitamines d'où l'importance d'un apport exogène en vitamines au milieu de culture (Desmazaude & De Roissart, 1994 ; Guetarni, 2013).

**-Ions:** ont une fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes. En effet le fer est un élément important puisqu'il a des affinités pour un grand nombre de molécules chélatrices. Il

augmente la croissance et la production d'acide lactique pour les lactocoques ainsi le calcium et magnésium exercent un effet crucial dans le métabolisme énergétique, le sodium exerce un effet sélectif sur différentes espèces des bactéries lactiques (**Boyaval, 1989 ; Guetarni, 2013**). Le magnésium ( $Mg^{++}$ ) est un activateur des différentes réactions métaboliques : division cellulaire, stabilisation des acides nucléiques ou hydrolyse peptidique, comme il est essentiel pour les phosphokinases impliquées dans la glycolyse. Le manganèse ( $Mn^{++}$ ) joue un rôle important pour les bactéries lactiques en les protégeant contre la toxicité de l'oxygène. Il se substituerait au super oxyde dismutase pour éliminer les radicaux du super oxyde ( $O_2$ ). Le sodium ( $Na^+$ ) quant à lui, exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries lactiques (**Desmazeaud, 1992**).

## **VII. Applications industrielles des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'application à l'échelle industrielle (**Streit et al., 2008**).

### **VII.1. Domaine alimentaire**

#### **VII.1.1. Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques**

Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : saucissons, les laits fermentés et les fromages représentent des produits fabriqués à partir de matières premières d'origine animale, tandis que la choucroute, les olives et certains vins (fermentation malolactique) sont des exemples de transformation de matières premières d'origine végétale. Les bactéries lactiques ayant des activités sur l'odeur, la texture et le saveur des produits fermentés (**Daly et al., 1998 ; Hugenholtz et al., 2002 ; Axelsson, 2004 ; Streit et al., 2008**).

#### **VII.1.2. Rôle dans la conservation**

En industrie agro-alimentaire, les bactéries lactiques sont employées pour aider à la fois à la fabrication et la conservation des produits (la production d'acide lactique et de bactériocines) par l'inhibition des flores pathogènes (**Lee et al., 2006 ; Boudjemaa, 2008 ; Katcham et al., 2012**).

### **VII.2. Domaine de santé**

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du XX<sup>ème</sup> siècle, en 1907 par le Russe **Metchnikoff**, selon lui les *Lactobacillus*.sp pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant sa flore. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques (**Langella et al., 2001 ; Calvez et al., 2009**).

L'extraordinaire diversité de structures des EPS en fait une classe de molécules dont les applications directes ou indirectes dans le domaine médical sont en plein essor. Le dextrane et ses dérivés sont utilisés en laboratoire pour la purification de composés d'intérêt médical comme certaines enzymes, mais aussi comme outil thérapeutique en tant que «plasma artificiel». Ils peuvent servir pour l'encapsulation de médicaments dans le but d'un relargage contrôlé ou en exploitation des propriétés biologiques de ces polymères. La préparation de vaccins à partir d'EPS évite l'utilisation des extraits cellulaires et donc les effets secondaires provoqués par les métabolites tels que les lipopolysaccharides et les protéines (**Benasla, 2012**).

## **VIII. Bactéries lactiques comme probiotique**

### **VIII.1. Définitions**

Un probiotique est un microorganisme vivant qui, lorsqu'il est ingéré en quantité suffisante, exerce un effet positif sur la santé. Les probiotiques sont principalement des bactéries et des levures présentes ou réintroduites dans la flore intestinale résidente (**Gaggia et al., 2010**).

### **VIII.2. Applications des probiotiques**

Grâce à leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques utilisées par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, les probiotiques sont parfois utilisés comme compléments dans des produits ou bien dans des préparations pharmaceutiques sous forme de gélules.

### **VIII.3. Effets des probiotiques sur la santé humaine**

- Amélioration de la digestion du lactose

L'un des effets des bactéries lactiques qui a été le plus mis en avant et démontré chez l'homme est celui qui concerne l'amélioration de l'intolérance au lactose. (**Izquierdo, 2009**).

- Réduction du taux de cholestérol sanguin

Plusieurs études ont montré que la consommation des produits contenant des probiotiques entraîne une diminution du taux de cholestérol dans le sang. (**Dilmi, 2006**).

- Traitement des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)

L'utilisation de probiotiques a émergé comme un outil thérapeutique intéressant pour le traitement des patients, représentant une alternative intéressante à l'utilisation de drogues immunosuppressives/anti-inflammatoires qui présentent de nombreux effets secondaires (**Grangette, 2011**).

- Effets sur le système immunitaire

Des études ont montré que l'ajout des probiotiques compact certaines effets de l'affaiblissement du système immunitaire et en particulier renforce l'activité des cellules naturelles (Gill et al., 2001).

## **IX. Activités antimicrobiennes des bactéries lactiques**

Parmi les principaux atouts des bactéries lactiques est la préservation des qualités nutritionnelles et organoleptiques des produits alimentaires et l'augmentation de la durée de conservation (Abee, 1995 ; Hugenholtz et al., 1999). En effet, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl, la reutérine et les bactériocines.

### **IX.1. Acides organiques**

Les acides organiques comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation alimentaire et permettent d'inhiber la croissance des bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide. (Ammor et al., 2006).

### **IX.2. Peroxyde d'hydrogène**

Les bactéries lactiques ne possèdent généralement pas de catalase. L'accumulation du peroxyde d'hydrogène sous l'action des oxydases est la cause majeure de la présence de l'activité antimicrobienne, notamment chez les lactobacilles (Daeschel, 1989).

### **IX.3. Dioxyde de carbone**

Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui peut être toxique pour les microorganismes aérobies présents dans l'aliment. (Ammor et al., 2006).

### **IX.4. Diacétyl**

Le diacétyl est un produit du métabolisme du citrate qui est responsable de l'arôme des produits laitiers. Plusieurs genres des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus* peuvent synthétiser le diacétyl (Leveau et al., 1991).

Les bactéries à Gram négatif, les levures et les moisissures sont plus sensibles au diacétyl que les bactéries Gram positif (El-Ziney et al., 1998).

### IX.5. La reutérine

La reutérine (ou 3-hydroxypropionaldéhyde) est un métabolite intermédiaire qui possède un effet antimicrobien. Il est produit lors de la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus*, notamment *Lactobacillus reutei* (Vollenweider, 2004).

### IX.6. Les bactériocines

Le terme bactériocine a été utilisé pour désigner les protéines et peptides antimicrobiens synthétisés selon la voie ribosomique. Plus précisément, les bactériocines sont considérées comme des substances protéiques présentant une activité antimicrobienne. Ainsi les bactériocines, peuvent être isolées chez de nombreuses bactéries et archées (Klaenhammer, 1988).

Aucune bactériocine produite par des bactéries lactiques ayant une activité contre des bactéries Gram négatif n'a été décrite, la membrane externe de ces dernières ne permettant pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité. Cependant, plusieurs genres de bactéries à Gram négatif tels que *Haemophilus*, *Helicobacter* ou *Neisseria* se sont révélés être sensibles à certaines de ces bactériocines (Morency et al., 2001).

L'activité antimicrobienne des bactériocines a un effet soit bactéricide, provoquant la mort de la bactérie cible, soit bactériostatique inhibant la croissance bactérienne (Cotter et al., 2005b).

#### IX.6.1. Classification des bactériocines

Les bactériocines sont produites par plusieurs genres de bactéries lactiques : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* (Klaenhammer 1988; Piard & Desmazeaud, 1992), *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus* (Devuys & Vandamme, 1994) et *Bifidobacterium* (Meghrous et al., 1999). La nomenclature des bactériocines est basée sur le générique du genre ou de l'espèce productrice (Leclerc et al., 1995).

##### IX.6.1.1. Classe I

Les lantibiotiques : Ce sont des peptides de taille inférieure à 5kD, synthétisés par voie ribosomique et subissant des modifications post-traductionnelles importantes. Ces peptides sont caractérisés par la présence de résidus modifiés de type lanthionine (Guder et al., 2002). La structure de ces bactériocines diffère selon la localisation des ponts établis entre les acides aminés inhabituels (Tossi & Sandri, 2002).

Les lantibiotiques composés de deux peptides tels que la lacticine 3147, agissent également par la formation de pores dans la membrane des cellules cibles (Mc Auliffe et al., 2001).

### IX.6.1.2 Classe II

Cette classe regroupe les peptides dont le poids moléculaire est inférieur à 10kDa, sont stables à la chaleur et dépourvues de lantionine. Ces bactériocines ne contiennent pas d'acides aminés modifiés. (Drider *et al.*, 2006).

### IX.6.1.3. Classe III

Ce sont des protéines de taille supérieure à 30kDa et sensibles à la chaleur. La structure et le mode d'action de ces bactériocines diffèrent complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques. Cette classe ne contient que quatre bactériocines : l'helveticin produite par *Lactobacillus helveticus* A, l'enterolysin A produite par *Enterococcus faecium*, la zoocin A produite par *Streptococcus zooepidermicus* et lamillericin B produite par *Streptococcus milleri* (Nilsen *et al.*, 2003 ; Papagianni, 2003 ; Nigutova, 2007).

### IX.6.1.4. Classe IV

Cette classe comporte les bactériocines composées d'une partie non protéique nécessaire à l'activité inhibitrice (sucre ou lipide). La classe IV a été ajoutée suite à l'observation de la perte d'activité de certaines bactériocines après leur incubation en présence d'enzymes dégradant les sucres et les lipides (Jiminez-Diaz *et al.*, 1993).

## IX.6.2. Conditionnement des bactériocines

Il est très difficile de conditionner les bactériocines sous la forme purifiée. Les bactériocines semi-purifiées peuvent être conditionnées sous forme sèche par atomisation ou lyophilisation (Parente & Riccardi., 1999). La nisine, la seule bactériocine légalement approuvée comme additif est commercialisée sous forme semi-purifiée (Dortu & Thonart., 2009).

## IX.6. 3. Utilisation alimentaire des bactériocines

Les bactériocines sont employées dans plusieurs domaines. Leur utilisation dans le domaine alimentaire est devenue très intéressante grâce à leur potentiel d'assurer une sécurité microbienne et une bonne qualité du produit alimentaire (Delves-Broughton, 1990 ; Benech, *et al.*, 2002).

L'utilisation des bactériocines comme additifs naturels dans les aliments a suscité l'intérêt du consommateur qui cherche à minimiser l'utilisation des additifs chimiques artificiels dans les produits alimentaires. (Nykanen *et al.*, 1999).

## IX.6.4. Applications médicales des bactériocines

L'émergence de la résistance aux antibiotiques conventionnels ces dernières années a orienté la recherche vers l'étude de nouveaux agents antimicrobiens. (Dicks *et al.*, 2011).

# Matériels et méthodes

L'objectif de ce travail est d'isoler, caractériser et d'identifier des bactéries lactiques de la flore autochtone des grains de blé tendre par l'étude des facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques des propagules fongiques de la dite flore autochtone. Ce travail a été effectué au laboratoire de la microbiologie, de l'université Salhi Ahmed de Naama. Il faut aussi préciser que les échantillons nécessaires pour réaliser cette étude ont été prélevés à partir de la minoterie Merabet sis à la willaya de Naama.

## **I. Isolement des souches lactiques**

### **I.1. Milieux de cultures**

Les milieux de culture utilisés dans cette étude pour la croissance et l'identification phénotypique des souches lactiques sont les suivants :

- Les milieux solides

MRS solide, MRS bouillon MSE, Clark et Lubs, bouillon hypersalé , lait de Sherman à 1%

Tous les milieux de culture utilisés dans cette étude sont stérilisés à 120°C pendant 20min.

La composition des différents milieux de cultures est présentée en annexe.

### **I.2. Préparation de la solution mère**

Une quantité de 10g du blé tendre est mise dans 90 mL dans le bouillon MRS, puis incubation 24h à 30°C. Une série de dilutions allant de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-6}$  est ensuite réalisé dans le diluant TSE.

### **I.3. Ensemencement**

Après homogénéisation, un volume de 1ml de chaque dilution est étalé en surface dans des boîtes de Pétri contenant le milieu MRS solide et incubées à 30°C et 37°C durant 24 à 48h. Après croissance sur le milieu, les boîtes dont les colonies sont bien distinctes et dont les caractères cultureux comme l'aspect, la taille et la couleur, correspondent aux caractéristiques des bactéries lactiques sont isolées en vue d'une purification.

## **II. Purification et pré-identification**

La purification des bactéries sélectionnées est réalisée par un repiquage successif (trois fois) sur la gélose MRS (6 à 9ml de la gélose été coulée) selon la méthode d'épuisement de charge (méthode de quadrants). Après 24 à 72h d'incubation à 30°C, les colonies, bien distinctes et bien développées, sont retenues pour des examens macroscopiques, microscopiques et une recherche de la catalase afin de confirmer leur appartenance au groupe lactique.

## II. 1.Examen macroscopique et microscopique

Sur boîtes de Pétri et à l'aide d'une loupe binoculaire, les colonies isolées sont soumises à une observation macroscopique afin de déterminer les caractères culturaux (forme, aspect, taille, couleur). Ensuite, l'observation microscopique par coloration différentielle nous permet de distinguer les isolats selon le type de Gram (positif ou négatif), leur morphologie (bacille ou coque) et leurs modes d'associations (isolés, en chaînettes ou en tétrades). Les bactéries lactiques sont à Gram+.

## II. 2.Coloration de Gram

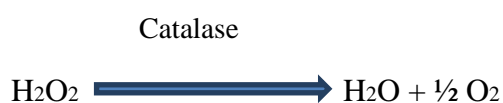
La coloration de Gram a été utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie et leur mode d'association (**Belarbi, 2011**), les colonies obtenues sont observées au microscope optique après fixation d'un frottis et la coloration de Gram, qui ce fait en 3 étapes :

Dans un premier temps, les cellules sont colorées avec du violet de gentiane pendant deux minutes. Ce colorant présente des affinités avec les composants du cytoplasme ; par conséquent les cellules se colorent en bleu-violet quelle que soit le type de paroi. Après rinçage à l'eau déminéralisée, une solution d'iodo-iodurée (lugol) est étalée sur les cellules pour fixer la couleur. Après 30 secondes, les cellules sont à nouveau rincées à l'eau déminéralisée.

Dans un deuxième temps, une décoloration est réalisée par rinçage avec de l'éthanol à 95% (15s). Pour terminer, une recoloration à la fuchsine est réalisée (10s).(**Guetarni, 2013**).

## II. 3.Recherche de la catalase

Certaines bactérie produisent du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Pendant leur respiration aérobie celui-ci est très toxique que certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes, elles synthétisent et notamment la catalase, Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Le résultat positif se traduit par un dégagement de bulles de gaz O<sub>2</sub>.

NB : Seuls les isolats catalase négatives et Gram positifs sont retenus pour une identification (**Labioui et al., 2005**).

## II. 4. Recherche de l'oxydase

Ce test détecte un type particulier de chaîne respiratoire qui comporte en fin de chaîne un cytochrome C et l'oxydase associée. Une petite surface de papier filtre est humectée avec quelques gouttes de réactif de l'oxydase de Kovacs et on y étale une petite quantité de cellules bactériennes. Les espèces oxydase-positives donnent une coloration violette immédiatement ou dans les 10 secondes (Savado, 2004).

## III. Conservations des bactéries lactiques

Après purification, les isolats sont conservés selon deux méthodes

- **Conservation de courte durée** : les isolats purs sont ensemencés dans des tubes de MRS incliné. Après incubation à 37°C, les tubes sont placés à +4°C leur renouvellement se fait par repiquage toutes les 4 semaines,
- **Conservation de longue durée** : les isolats bactériens purs sont cultivés dans du lait écrémé stérile à 70% (enrichi par 0.05% d'extrait de levure) supplémenté de 30% à 40% de glycérol (Samelis et al., 1994). Les cultures sont incubées à 30°C. Après coagulation du lait, les tubes sont conservés à -20°C.

## IV. Identification des bactéries lactiques

L'identification a été établie en se basant sur des caractères biochimiques et physiologiques.

### IV. 1. Etude physiologique et biochimique

#### IV. 1.1. Test de croissance à différentes températures

Ce test consiste à différencier entre les bactéries lactiques mésophiles et thermophiles. Les isolats ont été ensemencés dans le milieu MRS liquide à pH=6,5. On a testé leurs croissances à trois températures 25°C, 30°C, 45°C pendant 24 à 48 heures. La croissance se manifeste par un trouble.

#### IV. 1.2. Test des pH

Ce test est utilisé pour définir la capacité des bactéries lactiques à croître à différents pH. Le test est réalisé par l'ensemencement des isolats dans deux milieux MRS liquide modifié à différents pH : 4.5 et 6.5. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h. On apprécie la croissance par l'apparition d'un trouble.

#### IV. 1.3. Test mannitol-Mobilité

Le test permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et l'étude de la mobilité de la souche. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale dans le culot jusqu'au fond du tube. Après 24h à 37°C d'incubation, la fermentation du mannitol se révèle par une acidification du milieu qui fait virer l'indicateur de pH au jaune. La mobilité se traduit par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement vers la périphérie, en créant une turbidité. Les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la pique centrale (Amara & Khaladi., 2015).

#### IV. 1.4. Type respiratoire

D'après Benslimani, 2006, ce test nous permet de classer les bactéries selon leur type respiratoire en 4 catégories principales selon les résultats : aérobies, anaérobies, aéro-anaérobies et micro-aérophiles.

Nous utilisons pour ce test la gélose profonde de type viande-foie (VF) répartie en tubes en culot. On ensemence le milieu à l'aide d'une pipette Pasteur que l'on prolonge au fond du tube puis que l'on remonte en décrivant une spirale de façon à ensemercer uniformément le milieu sur toute la hauteur. Le milieu est mis à incuber à 37°C pendant 48 heures.

Après l'incubation la lecture est :

- Les bactéries aérobies strictes se développent seulement en surface.
- Les bactéries anaérobies strictes se développent au fond du tube.
- Les bactéries aéro-anaérobies facultatives se développent sur toute la hauteur.
- Les bactéries micro-aérophiles se développent dans une zone intermédiaire.

#### IV. 1.5. Recherche du type fermentaire

Ce test a été effectué par l'ensemencement des souches dans le bouillon MRS contenant la cloche de Durham et l'incubation été faite à 37°C, pendant 24h à 48h. Le développement d'une bactérie hétéro-fermentaire se manifeste par l'apparition de gaz dans la cloche de Durham, qui est absente chez les bactéries homo-fermentaires (Bourgeois et al., 1991).

#### IV. 1.6. Recherche de l'acétoïne

Des tubes contenant chacun 5 ml de milieu Clark et Lubs sont ensemencés à l'aide d'une anse, après incubation à 37°C pendant 24 h. On ajoute trois gouttes de réactif VP1 (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) et le même volume du réactif VP2 (alpha-naphtol

à 6% dans l'alcool à 95°). Les tubes ont été soigneusement agités et ont été laissés en contact avec l'air libre pendant 5 à 10 min température ambiante. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu.

#### **IV. 1.7. Production dextrane**

La synthèse dextrane à partir du saccharose est mise en évidence dans le milieu MSE par l'ensemencement des isolats et une incubation réalisée à 37°C pendant 24h à 48 h.

La synthèse dextrane se traduit par la formation des colonies larges, visqueuses et gluantes.

#### **IV. 2. Croissance en milieu hostiles**

##### **IV. 2.1. Effet du NaCl**

Ce test permet de savoir si les bactéries sont capables de croître dans un milieu hypersalé, ce qui permet de distinguer les entérocoques des lactocoques. En effet, les espèces d'entérocoques poussent dans ce milieu. Les cultures sont ensemencées dans un bouillon MRS à 2%, 4%, 6,5% de NaCl. Les tubes sont incubés à 30°C pendant 24 à 72 h. La capacité à croître dans ces milieux hostiles est appréciée par une croissance dans ce milieu de culture.

##### **IV. 2.2. Thermorésistance**

La thermorésistance est réalisée avec un chauffage du milieu MRS liquide ensemencé par la culture bactérienne à une température de 65°C pendant 30 min (Stiles & Holzappel, 1997 ; Teuber & Geis, 2006). Mettre à l'étuve 24h à 37°C, La présence de trouble indique la croissance, les bactéries présentant une croissance sont considérées comme thermorésistantes. (Belarbi, 2011).

##### **IV. 2.3. Résistance au tellurite**

La tolérance au tellurite a été recherchée par ensemencement en stries, la gélose à 0.4% de tellurite de potassium, par les cultures à tester. Après une période de 24h d'incubation à 37°C, les bactéries résistantes donnent des colonies noires (Larpen, 1997).

##### **IV. 2.4. Croissance sur le lait de Sherman**

Ce test indique l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène qui est en milieu très oxydant. Le bleu de méthylène est décoloré par les germes possédant une activité réductasique et peuvent coaguler le lait. Un tube du lait écrémé additionné de 1% de

bleu de méthylène (1ml de solution à 1% par tube de 9ml de lait) estensemencé et incubé à 37°C pendant 24 à 48 h (**Ghozlan, 2012**).

# Résultats et interprétation

Les résultats que nous allons vous présenter appartient à des recherches que nous synthétisés.

A partir des travaux réaliser sous les thématiques :

- \* « L'isolement et caractérisation des bactéries lactiques à partir du Blé dur et Blé tendre en Algérie » de **Ayadi Abir & Elkole Bochra**, 2017. Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Khemis Miliana.
- \* Etude de la flore lactique de blé traditionnellement fermenté « Hamoum » de **Hama Hanane**, 2019. Mémoire de Master en sciences alimentaires, Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.
- \* Effet protecteur de certaines bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté type Hamoum de **Mokhtari Sara**, 2010. Mémoire de magister en physiologie de la nutrition et de sécurité alimentaire, Université d'Oran.

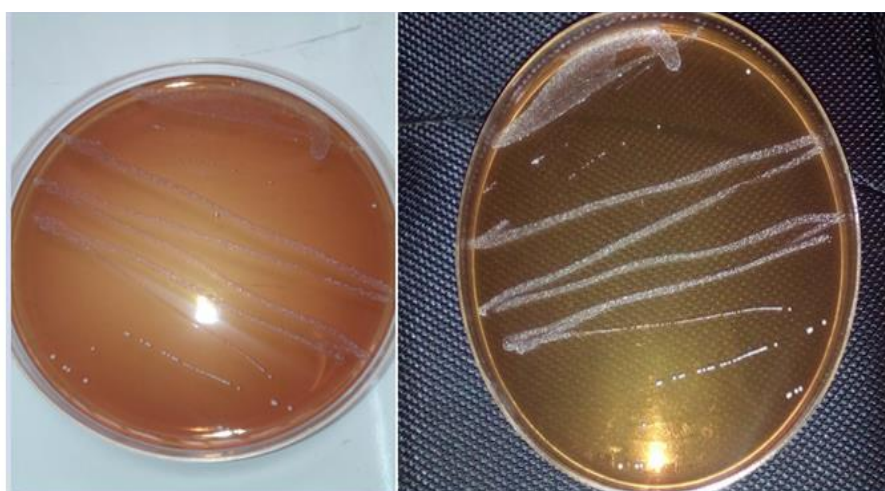
Les résultats obtenus sont les suivants

### **I. Isolement et caractérisation des bactéries lactiques**

Après une préparation d'une gamme de dilution décimales, 1 ml des dernières dilutions ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) a été ensemencé sur gélose MRS afin d'isoler des souches de bactéries lactiques. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h à 72h. (**Ayadi & Elkole . 2017**)

### **II. Identification des bactéries lactiques isolées**

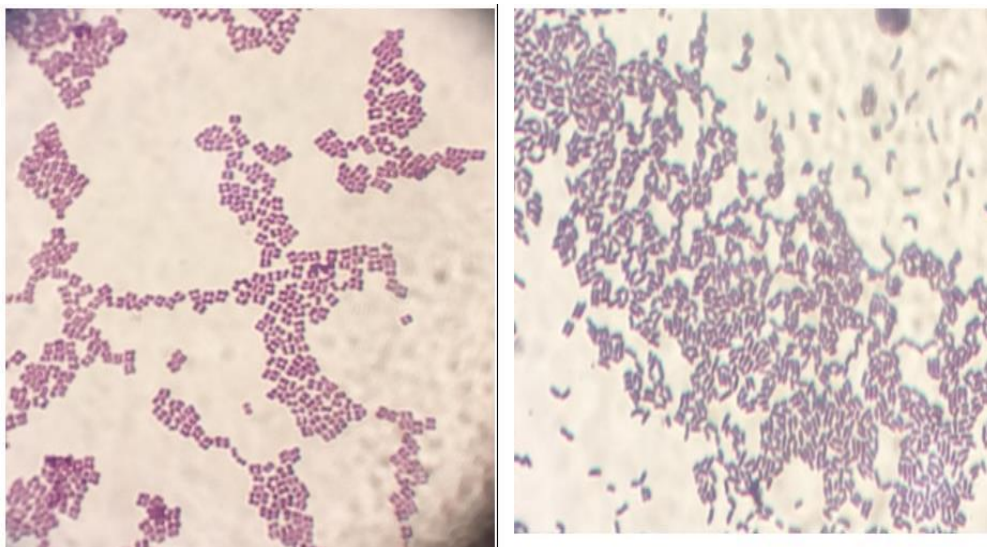
Après la durée d'incubation, des colonies rondes, blanchâtres et bien visible, apparaissent sur la gélose MRS.



**Figure 15:** Aspects des colonies ensemencées en surface sur milieu MRS après 48h d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  (**Ayadi & Elkole. 2017**)

### II.1.Aspect microscopique

L'étude de l'aspect microscopique des frottis préparés à partir des colonies des bactéries lactiques isolées et repiquées plusieurs fois jusqu'à leurs purification après coloration de Gram permet de différencier entre les coques et les bacilles. L'ensemble des bactéries isolées qui sont à Gram positif apparaissent sous microscope optique à 1000 en forme des bacilles associés en chainettes, des coques en tétrade, diplocoques et en groupe généralement de même taille.



**Figure 16 :** *Observation des coques lactiques à gauche, des bacilles lactiques à droite sous microscope optique après la coloration de Gram (10X100)(Ayadi & Elkole. 2017)*

### II.2. Identification physiologiques et biochimiques

**Tableau 6 : Profil physiologique et biochimique des souches isolées à partir de blé tendre et blé dur d'après Ayadi & Elkolei, 2017.**

Tests biochimiques	Blé tendre	Blé dur
Test catalase	Catalase négative	
Type fermentaire	Tous les isolats sont homo-fermentaires	
Culture sur milieu hypersalé de 2% . 4%. 6,5% du NaCl	A 2% du NaCl : 11 souches peuvent se développer dans ce milieu. A 4% du NaCl : 4 souches des bactéries peuvent se croître A 6 % du NaCl : 8 peuvent se résister et se développer	A 2% du NaCl : 10 souches peuvent se développer dans ce milieu. A 4% du NaCl : 7 souches des bactéries peuvent se croître A 6 % du NaCl : 8 peuvent se résister et se développer
Croissance à différents pH	Tous les isolats peuvent se croître à pH 6.5 A pH 4.5 seulement une seule souche peut se résister	Tous les isolats peuvent se croître à pH 6.5
Production d'acétoïne	Toutes les bactéries isolées produisent de l'acétoïne	
Lait bleu de Sherman	Une seule isolat coagule le lait et réduit le milieu à une concertation de 1% de bleu de méthylène	A une concertation de 1% de bleu de méthylène 5 souches coagulent le lait et réduisent le milieu
Thermo-résistance	5 isolats ont bien résisté à 60°C pendant 30 min	10 souches ont bien résisté à 60°C pendant 30 min

Blé fermenté 1 : Les résultats obtenus d'après **Mokhtari, 2010.**

Blé fermenté 2 : Les résultats obtenus d'après **Hama, 2019.**

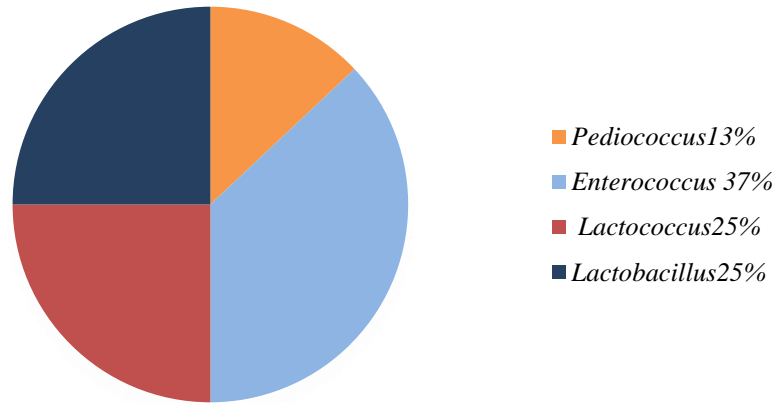
**Tableau 7 : Profil physiologique et biochimique des souches isolées à partir de blé fermenté d'après Mokhtari, 2010.**

Tests biochimiques	Résultats
Test catalase	Catalase négative
Test oxydase	Oxydase négative
Effet du NaCl	Seulement une seule souche résiste à la concentration de 6.5% du NaCl
Croissance à différents pH	Tous les isolats peuvent se croître à pH 6.5
Production d'acétone	Toutes les bactéries isolées produisent de l'acétone
Type fermentaire	La plupart des isolats sont homo-fermentaires
Croissance à différentes T°	La plupart des souches poussent à 30°C et 45°C 2 souches poussent à 10°C et 30°C
Thermo-résistance	La majorité des souches isolées ne résiste pas à 63°C

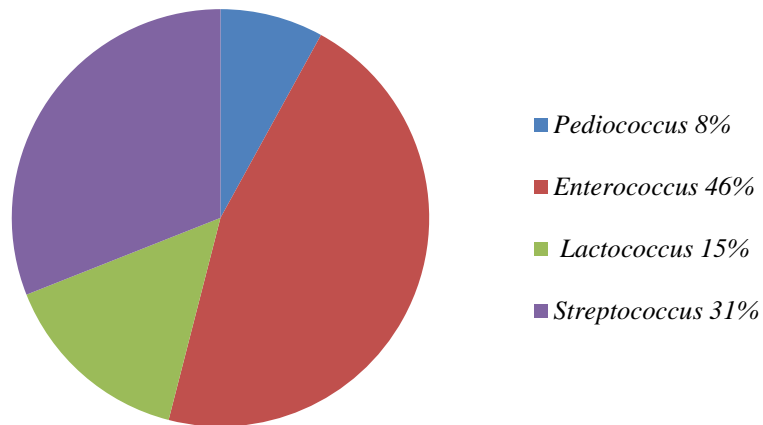
**Tableau 8 : Profil physiologique et biochimique des souches isolées à partir de blé fermenté d'après Hama, 2019.**

Tests biochimiques	Résultats
Effet du NaCl	A 6.5% du NaCl, la plupart des isolats sont capable de croître
Croissance à différents pH	7 isolats sont capables de se développer à pH = 4,5. 6 isolats se développent à pH = 9,5
Production d'acétone	Toute les souches sont incapables de produire l'acétone
Type fermentaire	Tous les isolats sont homo-fermentaires
Croissance à différentes T°	La majorité des bactéries sont capables de se développer à 25°C, 30°C. A la température de 45°C. il y'a la croissance Sauf des 12 isolats
Thermo-résistance	La plupart des souches isolées ne résiste pas à 63°C
Lait bleu de Sherman	Tous les isolats coagulent le lait et réduisent le milieu à une concentration de 1% de bleu de méthylène

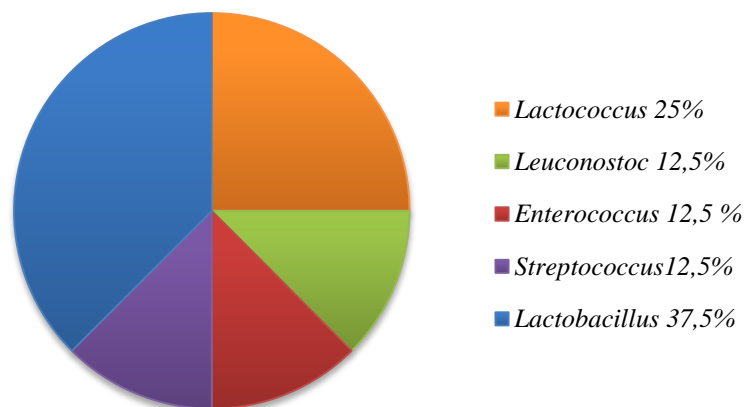
L'identification selon les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques il a permis de mettre en place des genres représentés par des bactéries lactiques dont leur distribution selon le pourcentage d'apparition est illustrée par les (Figure 17, Figure 18 , Figure19 et Figure20 ).



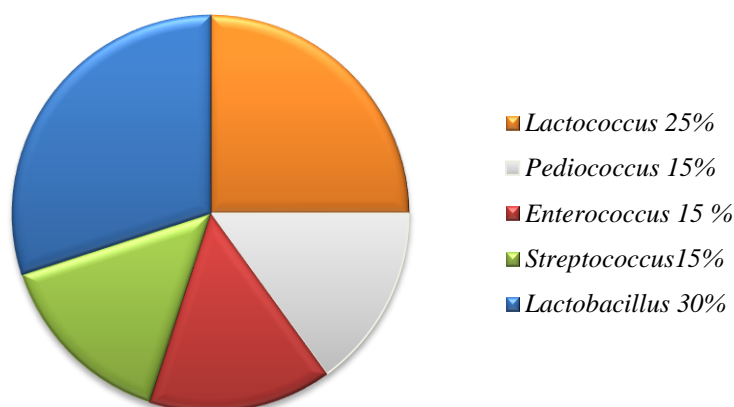
**Figure 17 :** Répartition des bactéries lactiques (%) de blé tendre.



**Figure 18 :** Répartition des bactéries lactiques (%) de blé dur.



**Figure 19 :** Répartition des bactéries lactiques (%) de blé fermenté 1



**Figure 20** : Répartition des bactéries lactiques (%) de blé fermenté 2

**Tableau 9** : Tableau représentatif de différents pourcentages des genres isolés à partir de blé tendre, blé dur et le blé fermenté 1 et 2.

Les échantillons Les genres obtenus (%)	Blé tendre	Blé dur	Blé fermenté 1	Blé fermenté 2
<i>Enterococcus</i>	37%	46%	12.5%	15%
<i>Lactococcus</i>	25%	15%	25%	25%
<i>Lactobacillus</i>	25%	/	37.5%	30%
<i>Pediococcus</i>	13%	8%	/	15%
<i>Streptococcus</i>	/	31%	12.5%	15%
<i>Leuconostoc</i>	/	/	12.5%	/

A partir de ce tableau qui représente les différents pourcentages des genres lactiques isolés, on observe qu'il y a une diversité des bactéries entre les échantillons utilisés,

- \* le genre *Enterococcus* est le genre le plus abondant dans les échantillons de blé tendre et blé dur avec un pourcentage de 46% dans le blé dur et de 37% dans le blé tendre.
- \* Le genre de *Lactococcus* est présent dans blé tendre et blé fermenté 1 et 2 avec le même pourcentage de 25%.
- \* Le genre de *Lactobacillus* est présent dans le blé fermenté 1 en grand pourcentage de 37.5%.
- \* le genre *Pediococcus* est présent beaucoup plus dans le blé fermenté 2 avec un pourcentage de 15%.

- \* Le genre *Streptococcus* est présenté avec un grand pourcentage de 31% dans le blé dur et genre *Leuconostoc* est présenté seulement dans le blé fermenté 1.

## Interprétation

Cette étude s'est proposée d'isoler et caractériser les bactéries lactiques à partir de blé et avec d'autre façon c'est pour le but de confirmer la richesse et les bienfaits de blé. Les céréales sont des espèces généralement cultivées pour leur grain, dont l'albumen amylicé, réduit en farine, est consommable par l'homme ou par les animaux domestiques (**Nedjah, 2015**). La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole. En Algérie Les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière (**Nedjah, 2015**).

L'objectif de cette étude est de faire une recherche sur l'un des constituants bénéfiques de cet aliment qui sont les bactéries lactiques. Les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne et la stabilisation des produits finaux de la fermentation (**Ennadir et al., 2014**).

D'après les résultats d'**Ayadi & Elkolei, 2017**.

Les souches lactiques qui sont purifiées et identifiées dont leur coloration de Gram montre que les cellules bactériennes sont à Gram positif.

Les bactéries lactiques isolées caractérisent par le mode respiratoire aérobie et aéro-anaérobie facultatifs. Toutes les souches, sont homo-fermentaires. Toutes les souches ne possèdent pas l'oxydase et immobiles. Elles ont une catalase négative. La plupart de ces bactéries lactiques produisent l'acétoïne et résistent au tellurite. D'autre part, ces souches sont également, toutes capables de croître à 65°C, à pH 6,5. La plupart de ces bactéries lactiques peuvent de croître à 2 % de NaCl.

D'après les résultats de **Hama, 2019**.

Tous les isolats sont Gram positive, catalase négative et homo-fermentaire. Toute les souches sont incapables de produire l'acétoïne. La plupart des souches isolées résistent à 60°C pendant 30 min. Tous les isolats coagulent le lait et réduisent le milieu à une concentration de 1% de bleu de méthylène. A 6.5% du NaCl la plupart des isolats sont capable de croître dans ce milieu. La majorité des bactéries sont capables de se développer à 25°C, 30°C.

D'après les résultats de **Mokhtari, 2010**.

La majorité des isolats sont à Gram positive, catalase négative et oxydase négative et homo-fermentaire. Toute les souches sont capables de produire l'acétóine.

La plupart des souches isolées ne résiste pas à 63°C. Tous les isolats coagulent le lait et réduisent le milieu à une concertation de 1% de bleu de méthylène. La majorité des isolats ne résiste pas à 6.5% du NaCl. La majorité des bactéries sont capables de se développer à 30°C, 45°C.

# **Conclusion et Perspectives**

## Conclusion et perspectives

L'objectif de notre étude est l'isolement et la caractérisation des bactéries lactiques de blé tendre qui ont la capacité d'autoprotection naturel contre les altération des moisissures au cour de stockage du blé et qui jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne.

Mais malheureusement à cause de la Corona virus nous n'avons pas pu compléter notre pratique c'est pour ca nous avons effectué des recherches bibliographiques sur des travaux similaire

Ces travaux ressort que :

D'après **Ayadi & Elkolei, 2017**. Les bactéries lactiques isolées appartenant aux genres suivants: *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*.

D'après **Mokhtari, 2010**. Les résultats obtenus après un isolement et identification ont montré que le blé fermenté « Hamoum » présente une source importante des bactéries lactiques appartenant aux genres suivants : *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*.

D'après **Hama, 2019**. Les bactéries lactiques isolées appartenant aux genres : *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*.

D'après les résultats, on peut conclure que le blé dispose d'une biodiversité riche en bactéries lactiques. Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire. Ces bactéries ont la capacité de synthétiser des substances à effet inhibiteur, ce qui a attiré l'attention des chercheurs dans les dernières années afin de les utiliser comme bio-conservateurs et d'augmenter ainsi la durée de conservation des denrées alimentaires.

Toutefois, cette étude est un point de départ pour approfondir et caractériser les propriétés biotechnologiques des bactéries lactiques du blé. De plus, ces informations pourraient être utilisées dans l'élaboration d'un programme de recherche afin d'identifier et de sélectionner des souches probiotiques à des fins thérapeutiques.

Notre étude ouvre les axes des recherches suivants :

- ✓ Caractériser les bactéries lactiques isolées à l'échelle moléculaire par PCR.
- ✓ Séquencer ces bactéries.
- ✓ L'amélioration des méthodes pour identifier des souches isolées par l'application du génie génétique.
- ✓ Recherche des nouvelles souches à partir de blé et des autres céréales.
- ✓ Réaliser des recherches sur les aliments à la base du blé (plats traditionnelles) et ses effets sur la santé humaine.
- ✓ L'étude des propriétés des bactériocines.
- ✓ Elargir la gamme des souches pathogènes testées.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

### A

- ✓ **Abderrakid Zahid**, 2010. Mécanismes cellulaires et moléculaires régissant le métabolisme des semences des céréales rôle du réseau rédoxines-système antioxydant dans la prédiction de la qualité germinative pp : 20-21.
- ✓ **Adams Martin R & Moss Maurice O**, 2008. Food microbiology. RSC Publishing. The Royale Society of Chemistry. Third Edition; 463P.
- ✓ **Afoulous Samia**, 2008. Modulation de l'expression de rédoxin chez les céréales et réponse au stress oxydatif .p :17.
- ✓ **Ait Bella & El Arabie**, 1993. Suivi et évaluation des performances de cinq systèmes de stockage de céréales et légumineuses dans le saïs. Mémoire de 3ème cycle IA Institut agronomique et vétérinaire Hassan II Dept Equipement Hydraulique, 200p.
- ✓ **Alais C, Linden G & Mielo L**, 2003. Biochimie Alimentaire. 5ème Ed. Dunod, 131p
- ✓ **Alfonso A, Ventimiglia O, Corona R, DiGerlando R, Gaglio N, Francesca G, Moschetti & Settani L**,2013 .Diversity and technological potentiel of lactic acid bacteria of wheat fluors . Food Microbiology 36 ,343-354
- ✓ **Amara I & Khaldi Z**, 2015. Isolement, identification et étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir de services de réanimation et d'hémodialyse de CHU Ouargla. Mémoire de master en Biologie, spécialité microbiologie appliquée,
- ✓ **Appert J**, 1985. Le stockage des produits vivriers et semenciers : Le technicien de l'agriculture tropicale. Ed : Maisonneuve et Larose, 98p.
- ✓ **Ayadi Abir & Elkolei Bochra**, 2017. L'isolement et caractérisation des bactéries lactiques à partir du Blé dur et Blé tendre en Algérie. Mémoire de Master, Khemis Miliana ,97p.

### B

- ✓ **Badis A, Guetarni D , Moussa Boudjema B** , 2004 .Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races ,Food Microbiology ,21 :579-588.
- ✓ **Badis A, Guetarni D, Kihal M & Ouzrout R**, 2005 : Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». Scien &Tech, 23 : 30-37.

- ✓ **Bartali E, Safie E . & Persoons E** ,1989 . Stockage des céréales dans des entrepôts souterrains. Céréales en régions chaudes : conservation et transformation Aupelf J Libbey Eurotext,pp 27-38 .
- ✓ **Bekhouché F & Boulahrouf A** ,2013. Etudes quantitative et qualitative des bactéries
- ✓ **Belarbi F** , 2011. Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. Mémoire de magister en Biologie,option microbiologie alimentaire et industrielle, Université Es-Sénia, Oran, 129p.
- ✓ **Belyagoubi L** , 2014.Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens.
- ✓ **Benbelkacem A** , 2007 .Les tricales : cultures performances et différentes possibilités d'utilisation en Algérie .Journée techniques sur la culture du triticale en zone semiaride et son utilisation par les animaux domestique : Oum Elbouagui-Elkhroub ,23 :38-45.
- ✓ **Benslimani A** , 2006. Physiologie bactérienne nutrition-métabolisme-croissance. Cours de résidanat de microbiologie. Pp :73-75.
- ✓ **Boutigny Anne-Laure** , 2007. Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B : purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués .p:5.

## C

- ✓ **Carr FJ , Chill D & Maida N** , 2002 .The Lactic Acide Bacteria .A literature Survey . CriticalRev .Microbiol ; 28 :4.281370 .

## D

- ✓ **Deàk T** , 2008. Handbook of food spoilage yeasts. CRC Press. Second Edition. 325P.
- ✓ **Dendy D.A.V. & Dobraszczyk BJ** , 2001. Cereals and Cereal Products: Technology and Chemistry. Food products series, Ed:Springer, 4: 370
- ✓ **Doumandji A,Doumandji- Mitiche B. & Salaheddine D** , 2003. Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, pp : 1-22.
- ✓ **Druvefors Ulrika A & Schnürer J** , 2004. Mold-inhibitory activity of different yeast species during airtight storage of wheat grain. FEMS yeast Research. 5: 373 - 378.

- ✓ **Druvefors Ulrika A & Schnürer J**, 2004. Mold-inhibitory activity of different yeast species during airtight storage of wheat grain. *FEMS yeast Research*. 5: 373-378.

## E

- ✓ **Elagrouz Abdenour**, 2013. Analyse du comportement du blé tendre, variété el wifak (*Triticum aestivum*) conduite en labour conventionnel, travail minimum et semis direct sur les hautes plaines sétifiennes.p :3.
- ✓ **Ennadir J , Hassikou R , Al Askari G ,Araho M , Bouazza F,Amallah L, Amine S, Khedi k**, 2014. Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypique and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco),*J.Mater .Environ .Sci* .5(4)1125-1132.ISSN :2028-2528 CODEN :JMESCN.P1126 .

## F

- ✓ **Feillet P**, 2000. Le grain du blé : composition et utilisation. INRA paris 196- 198. 308. ISBN 2 -7380-0896-8,55-75.
- ✓ **Forget F , Richard & Oswald**, 2012. Mycotoxines : quelles avancées scientifiques pour une meilleure maîtrise des risques .p :3.

## G

- ✓ **Gacem Mohamed Amine ,Ould el Hadj Khelil Aminata & Gacemi Bouabdallah**, 2011. Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office Algérien interprofessionnel des céréales (Oaic) de la localité de Saida (Algerie).p :3.
- ✓ **Ghozlane D**, 2012. Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle). Mémoire de magister en Agronomie, Option sciences alimentaires, Ecole Nationale Supérieure El Harrach-Alger, 138.
- ✓ **Guetarni H**, 2013. Effets antibactériens des bactéries lactiques isolées à partir des laits crus Algériens sur la croissance de *Helicobacter pylori*. Thèse de doctorat. Université d'Oran Es-Senia, 276p.
- ✓ **Guignard J-L & Dupont F**, 2004. Botanique Systématique Moléculaire. 13 Ed révisée, Ed : Masson, Paris, pp : 116-117.
- ✓ **Guiraud JP**, 2003. Microbiologie alimentaire : Série agro-alimentaire .Ed Dunod .696.

## H

- ✓ **Hadria R**, 2006. Adaptation et spatialisation des modèles stricts pour la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi aride .Thèse de doctorat. UNIV Cadi Ayad Samlalia –Marrakech.
- ✓ **Hama Hanane**, 2019. Etude de la flore lactique de blé traditionnellement fermenté « Hamoum ». Mémoire de Master en sciences alimentaires, Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem,65p
- ✓ **Hamidi Ouahiba** , 2011.Evaluation des ressources phytogénétiques des blés cultivés en Algérie et de leurs apparentés. Analyse de l'expression différentielle de protéine dans le grain selon deux conditions de culture (biologique versus conventionnelle). p : 4.
- ✓ **Hammes WP & Hertel C** ,2006. The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium* .The Prokaryotes , 4 :320-403 .
- ✓ **Hennouni Nacera** ,2012 .Eevaluation du métabolisme respiratoire et enzymatique des racines de blé dur (*Triticum durum*) issues de plantes infectées par les maladies cryptogamiques et de plantes traitées avec un fongicide (ARETA EC 330).p :6

## J

- ✓ **Jeantet R, Croguennec T, PSchuck P. & Gerard B**, 2007. Science des aliments : Biochimie Microbiologie. Procédés produits, pp : 138-159.

## K

- ✓ **Kermiche Meryem**, 2013. Caractérisation de certaines souches microbiennes évoluant dans le blé fermenté et mise en évidence de leurs activités enzymatiques. Mémoire de magister en sciences alimentaires, option biotechnologie alimentaire, Université Constantine 1, 123p .

## L

- ✓ **Labioui H, Elmoualdi L, El Yachioui M, & Ouhsine M**, 2005. Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux. 144 : 237-250.lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage du Constantine .Science & Technologie , 23 : 38-45

- ✓ **Larpent J**, 1997 . Mémento technique de microbiologie. 3ème Ed. Technique et Documentation Lavoisier, Paris. Pp 910.
- ✓ **Leplat Johann** , 2012. Développement saprotrophe de *Fusarium graminearum* : respectif de différents habitats naturels du champignon dans le processus d'infection du blé en Bourgogne , recherche d'indicateurs prédictifs du risque de fusariose p :39.

## M

- ✓ **Marchal N, Bourdon JL & Richard C**, 1991. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème édition, Doin éditeurs, Paris.
- ✓ **Mathew Shiju, Thomas George & Tufail Ahmad**, 2011. An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. Nepal Journal of Biotechnology, 1: 9-13.
- ✓ **Mokhtari Sara**, 2010. Effet protecteur de certaines bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté type Hamoum. Mémoire de magister en physiologie de la nutrition et de sécurité alimentaire, Université d'Oran, 165p.
- ✓ **Mosiniak M, Prat R & Roland JC**, 2001. Du blé Au pain. Ed : Biologie et Multimédia », <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/blepain/blepres/blepres.htm>.

## N

- ✓ **Nedjah I**, 2015. Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum* Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb). Thèse de doctorat du troisième cycle, Université Badji Mokhtar – Annaba, 144p.
- ✓ **Niquet G**, 2006. Stockage à la ferme des grains Issus de l'agriculture biologique Office national interprofessionnel des céréales . Institut du Végétal ARVALIS ,PP 1 -4

## O

- ✓ **Ouray François-Xavier** , 2007. Alimentation et céréales . p :3.

## P

- ✓ **Petersson S & Schnürer J**, 1995. Biocontrol of mold growth in high-moisture wheat stored under airtight conditions by *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, and *Saccharomyces cerevisiae*. Appl. Environ. Microbiol. 61(3):1027-1032.

## R

- ✓ **Reimbert MA**, 1982. Silos, théorie et pratique. Calcul fonctionnement et réalisation. Eyrolles Paris.
- ✓ **Roberts T**, 2005. Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities. Second Edition. Springer; 776P.

## S

- ✓ **Samelis j, Maurogenakis F & Metaxopoulos J**, 1994. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry Salami. Int. J. Food Microbiology . 23:179-196.
- ✓ **Savado A**, 2004. Caractérisation biochimique et moléculaire des bactéries lactiques productrices d'exopolysaccharides isolées à partir d'échantillon du lait fermenté du Burkina Faso , thèse unique de doctorat , université de Ouagadougou .
- ✓ **Schleifer K, Stackebrandt E**, 1983. Molecular systematic of prokaryotes . Annu . Rev . Microbiol , 37 :143-187 .
- ✓ **Signalet Jean**, 2004. L'alimentation ou la troisième médecine . p :89.
- ✓ **Selmi R**, 2000. Fin du mythe de l'autosuffisance alimentaire et place aux avantages comparatifs. Revue Afrique Agriculture. N° 280 :30-23.
- ✓ **Soltner D** , 2005. Les grandes productions végétales .20èmeEd CCTA ,Pp : 20-140.
- ✓ **Stiles M-E. & Holzapfel W-H**, 1997: Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Inter. J. Food Microbiol, 36: 1-29.
- ✓ **Stiles Michael & Holzapfel Wilhem**, 1997. Lactic bacteria of foods and their current taxonomy . Inter .J .Food Microbiol ,36 :1-29
- ✓ **Surget A & Barron C**, 2005. Histologie du grain de blé. Industrie des céréales, n. 145, pp. 4-7.

## T

- ✓ **Tahlati Hafida**, 2019. Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques, Mostaganem.169p
- ✓ **Teuber M & Geis A, Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E**, 2006. The genus Lactococcus. p 205–228, editors. (ed), In The prokaryotes. Springer, New York, NY.

## U

- ✓ **Ugrinovits , Schmerikon , 2004 .** céréales , produits de l'industrie meunière , premélanges pour four , mélanges de farine farines instantanées .p :2.Université de Ouargla, 98p.

## Y

- ✓ **Yves H & Buyer J**, 2000. L'origine des blés. Pour les sciences hors série n° 26. pp : 60 - 62.

# **Annexes**

## Annexes

### Composition des milieux de culture

#### ❖ Milieu MRS

Peptone.....10g

Extrait de viande.....10g

Extrait de levure.....5g

Glucose .....20g

Sulfate de magnesium.....0,2g

Sulfate de manganèse .....0,5g

Agar.....15g

Eau distillée.....1000ml

pH=6,5 , Autoclavage 20 min à 120°C.

#### ❖ Milieu MSE

Tryptone .....20g

Gélatine .....2,5g

Extrais de levure.....5g

Saccharose .....100g

Glucose ..... 5g

Citrate de sodium..... 1g

Acide de sodium.....0,075

Agar-Agar..... 15g

Eau distillée.....1000ml

pH=6,5 , Autoclaver à 120°C pendant 20 min

#### ❖ Bouillon de Clark et Lubs

Peptone.....10g

Phosphate bi potassique.....2g

Glucose.....5g

❖ **Mannitol-mobilité**

Peptone.....20g  
Nitrate de potassium.....1g  
Mannitol..... 2g  
Rouge de phénol.....40g  
Gélose.....4g      PH=8,1 ; autoclavage 20 min à 120°C

❖ **VF (milieu viande-foie gélosé)**

Extrait de viande-foie.....30g  
Glucose.....2g  
Gélose.....6g      PH=7,4 ; Répartir en tubes à essais.

❖ **Tellurite**

Extrait de viande.....10g      Extrait de levure.....3g  
Peptone.....10g      Glucose.....5g  
Chlorure de sodium.....5g      Gélose.....20g

❖ **TSE**

Tryptone .....1g  
NaCl.....8.5g  
Eau distillée.....1000ml

❖ **Lait écrémé** (Utilisé pour la préparation du milieu de Sherman)

Lait écrémé ..... 100g  
Eau distillé.....1000 ml      Autoclave120°C pendant 10 min

❖ **Lait bleu de Sherman**

Lait écrémé..... 100ml  
Bleu de méthylène à 1%....1ml      Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 10 min