

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Chahid Cheikh Larbi Tébessi-Tébessa-
Faculté Des Sciences Exactes Et Des Sciences De La
Nature Et De La Vie
Département De Biologie Appliquée



THESE

Présentée En Vue De L'obtention Du Diplôme De **Doctorat LMD**

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Sous le Thème :

**Caractérisation d'une collection de bactéries lactiques autochtones :
étude des propriétés biotechnologiques et probiotiques**

Présentée par :

Mlle Metrouh Roumaissa

Directeur de thèse:

Mr Mechai Abdelbasset Professeur Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Co-directeur:

Mme Debabza Manel MCA Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Devant le jury composé de :

Président : **Mr** Djabri Belgacem Professeur Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Examineurs : **Mr** Rabeh Arhab Professeur Université Larbi Ben M'hidi -Oum El Bouaghi-

Mr Houhamdi Moussa Professeur Université 8 Mai 1945 –Guelma-

Mme Benhadj Mabrouka MCA Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Année Universitaire : 2021/2022

عبدالمعز بن
موفق

ملخص

تلعب بكتيريا الحليب دوراً مهماً في تحويل الأطعمة وحفظها، سواء كانت بكتيريا أصلية أو زراعات مضافة في ظل ظروف خاضعة للرقابة. الهدف من عملنا هو عزل بكتيريا الحليب من منتجات الألبان المحضرة تقليدياً ودراسة قدراتها البيوتكنولوجية والبروبيوتيكية من أجل الحصول على مجموعة من السلالات عالية الأداء.

تم عزل السلالات من عينات: جبين ، كلبية ، بوهزة ، زبدة و الدهان ، المصنعة في مناطق شرق الجزائر (تبسة ، سوق أهراس و أم البواقي). خضعت العزلات لدراسة الخواص البيوتكنولوجية (القدرة الحمضية ، القدرة على تحلل اللبروتين ، القدرة على تحلل الدهني ، القدرة على اعطاء القوام و النكهة والقدرة البروبيوتيكية (مقاومة الحموضة والتأثير المشترك للأس الهيدروجيني الحمضي والأملاح الصفراوية ، الالتصاق بالخلايا الظهارية في المختبر ، النشاط المضاد للميكروبات ومقاومة المضادات الحيوية). تم التعرف على عزلات بكتيريا الحليب التي أظهرت خصائص بيوتكنولوجية مثيرة للاهتمام بواسطة API 50CHL و Maldi-TOF-MS. وهكذا ، تم اختيار السلالات بعد دراسة التفاعلات البكتيرية لإعادة تكوين الخميرة المختلطة (كل منها مكونة من سلالتين) والتي استخدمت في تحضير الجبن الطازج من نوع *Jben*. في موازاة ذلك ، تمت دراسة حفظ هذه الأجبان المصنوعة بإضافة الزيوت الأساسية المستخرجة من نبات طبي (سينامون كاسيا). تمت مراقبة استقرار الأجبان المعالجة وغير المعالجة بالزيت العطري من خلال التحاليل الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية والحسية.

في هذه الدراسة تم عزل 175 بكتيريا الحليب من 87 عينة من منتجات الألبان المخمرة بطريقة حرفية. أتاح التعرف الأولي استناداً إلى الصفات المورفولوجية والفيولوجية إمكانية نسبتها إلى الأجناس: *Lactococcus* (56,58%) ، *Pediococcus* (6,20%) ، *Lactobacillus* (25,58%) ، *Enterococcus* (11,62%) ، تم اختيار واحد وعشرين عزلة على أساس قدراتها التكنولوجية والبروبيوتيكية العالية. تم التعرف عليها على أنها: *Lactobacillus plantarum* (5 سلالات) ، *Lb.brevis* (سلالة واحدة) ، *Lb. paracasei* (3 سلالات) و *Lb.reuteri* (سلالة واحدة) ، *Pediococcus pentosaceus* (سلالة واحدة) ، *Enterococcus faecium* (5 سلالات) ، *En. durans* (سلالتان) ، و *Lactococcus lactis* (3 سلالات).

من بين هذه السلالات اللبنية الـ 21 ، تم اختيار ثماني سلالات لإعادة تشكيل 12 نوعاً من الخميرة المختلطة ، من بينها ، تم اختيار نوعين من الخميرة على أساس الخصائص التكنولوجية لتصنيع نوعين من أنواع الجبن المصنوعة يدوياً من نوع *Jben*. سمح دمج مستخلص نشط حيويًا للقرفة القرفة (HECC) ، المكون الرئيسي لها هو سينامالديهيد ، بجرعة محددة جيداً (0,125%) ، بحفظ أفضل للجبن المنتج. أثبتت HECC إمكانات نشطة بيولوجياً ملحوظة ، مما يشير إلى أنه يمكن استخدامها كمضافات غذائية طبيعية لتحسين جودة الغذاء.

مكنت دراستنا من تشكيل مجموعة من سلالات بكتيريا الحليب التي تتميز بقدرات بيوتكنولوجية وبروبيوتيكية مثيرة للاهتمام ، والتي يمكن استغلالها في صناعة الأغذية.

الكلمات المفتاحية: الجبن الحرفي ، بكتيريا الحليب ، إمكانات التكنولوجيا الحيوية ، قدرات بيوتكنولوجية ، قدرة بروبيوتيكية ، خمائر مختلطة ، حفظ بيولوجي ، زيت عطري ، سينامالديهيد.

Abstract

Lactic acid bacteria play an important role in the transformation and preservation of foods, whether as natural microflora or as cultures added under controlled conditions. The goal of our work is to isolate lactic acid bacteria from traditional milk products and study their biotechnological and probiotic abilities in order to have a collection of high-performing strains.

The isolation was created using Jben, Klila, Bouhezza, Zebda, and Dhan samples produced in eastern Algeria (Tébessa, Souk Ahras, and Oum ElBouaghi). The isolates were studied for biotechnological properties (acidification, proteolysis, lipolysis, texturation, and aromatization) as well as probiotic potential (acid resistance and the effect of acid pH and biliary salts, *in vitro* adhesion to epithelial cells, antimicrobial activity, and antibiotic resistance). API 50CHL and Maldi-TOF-MS were used to identify lactic isolates with interesting biotechnological and probiotic properties. So, after studying bacterial interactions, some strains were chosen for the reconstitution of mixed ferments (each one is made up of two strains) used in the preparation of *Jben*-type fresh cheeses. In the meantime, the preservation of these cheeses made with essential oils extracted from a medicinal plant (*Cinnamom cassia*) has been studied. The stability of *Jben* treated and untreated with essential oil was followed by physicochemical, microbiological, and sensory analyses.

In this study, 175 lactic acid bacteria were isolated from 87 samples of artisanal fermented dairy products. The preliminary phenotypic identification based on morphological and physiological characteristics allowed them to be assigned to the following genera: *Lactococcus* (56,58%), *Lactobacillus* (25,58%), *Enterococcus* (11,62%), and *Pediococcus* (6,20%). Twenty-one potential isolates have been chosen based on their potential technological and biological abilities and identified as; *Lactobacillus plantarum* "five strains", *Lb.brevis* "one strain", *Lb. paracasei* "three strains" and *Lb.reuteri* "one strain", *P. pentosaceus* "one strain", *Enterococcus faecium* "five strains", *En. durans* "two strains", *Lactococcus lactis* "three strains".

Among these 21 lactic strains, eight were chosen for the reconstitution of 12 mixed ferments, two of which were chosen on the basis of technological properties for the production of two artisanal *Jben* cheeses. The incorporation of a bioactive extract of *Cinnamom cassia* (CCEO), the main component of which is cinnamaldehyde, at a specific dose (0,125%), has allowed for better product preservation. The CCEO has demonstrated a

remarkable bioactive potential, indicating that it could be used as a natural food additive to improve food quality.

Our research has allowed us to create a collection of lactic acid bacteria with interesting biotechnological and probiotic properties that can be used in the food industry.

Key words: artisanal cheese, lactic acid bacteria, biotechnological potential, probiotic abilities, mixed ferments, bio-conservation, essential oil, cynamaldehyde.

Résumé

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la transformation et la conservation des aliments, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme cultures ajoutées sous des conditions contrôlées. L'objectif de notre travail est d'isoler des bactéries lactiques à partir de produits laitiers préparés de façon traditionnelle et d'étudier leurs aptitudes biotechnologiques et probiotiques afin d'avoir une collection de souches performantes.

L'isolement a été fait à partir des échantillons de : Jben, Klila, Bouhezza, Zebda et Dhan, fabriqués dans des régions de l'est algérien (Tébessa, Souk Ahras, et Oum ElBouaghi). Les isolats ont été soumis à l'étude des propriétés biotechnologiques (aptitudes : acidifiante, protéolytique, lipolytique, texturant et aromatisant) et des potentiels probiotiques (résistance à l'acidité et à l'effet combiné du pH acide et des sels biliaires, adhésion in vitro aux cellules épithéliales, activité antimicrobienne et résistance aux antibiotiques). Les isolats lactiques ayant montré des propriétés biotechnologiques et probiotiques intéressantes ont été identifiés par API 50CHL et Maldi-TOF-MS. Ainsi, des souches ont été sélectionnées, après étude des interactions inter bactériennes, pour la reconstitution de ferments mixtes (chacun est composé de deux souches) qui ont été utilisés pour la préparation des fromages frais type *Jben*. En parallèle, la conservation de ces fromages fabriqués par addition des huiles essentielles extraites d'une plante médicinale (*Cinnamom cassia*) a été étudiée. La stabilité des fromages traités et non traités par l'huile essentielle a été suivie par des analyses physico-chimique, microbiologique et sensorielle.

Dans cette étude, 175 bactéries lactiques ont été isolées à partir de 87 échantillons de produits laitiers fermentés de façon artisanale. L'identification phénotypique préliminaire basée sur les caractères morphologiques et physiologiques a permis de les attribuer aux genres : *Lactococcus* (56,58%), *Lactobacillus* (25,58%), *Enterococcus* (11,62%) et *Pediococcus* (6,20%). Vingt-et-un isolats d'intérêt prospectif ont été sélectionnés sur la base de leurs aptitudes technologiques et probiotiques potentielles. Ils ont été identifiés comme : *Lactobacillus plantarum* (5 souches), *Lb.brevis* (une souche), *Lb. paracasei* (3 souches) et *Lb.reuteri* (une souche), *Pediococcus pentosaceus* (une souche), *Enterococcus faecium* (5 souches), *En. durans* (2 souches), *Lactococcus lactis* (3 souches).

Parmi ces 21 souches lactiques, huit souches ont été choisies pour la reconstitution de 12 ferments mixtes, parmi lesquels, deux ferments ont été choisis sur la base de propriétés technologiques pour la fabrication de deux fromages artisanaux de type Jben. L'incorporation

d'une huile essentielle de *Cinnamon cassia* (HECC), dont le composant principal est le cynamaldéhyde, à une dose bien définie (0,125%), a permis une meilleure conservation du fromage produit. L'HECC a démontré un potentiel bioactif remarquable, indiquant qu'elle peut être utilisée comme additif alimentaire naturel pour améliorer la qualité des aliments.

Notre étude a permis d'établir une collection de souches de bactéries lactiques caractérisées par des aptitudes biotechnologiques et probiotiques intéressantes, qui peuvent être exploitées en industrie agro-alimentaire.

Mots clés : fromage artisanal, bactéries lactiques, potentiel biotechnologique, aptitudes probiotiques, ferments mixtes, bio-conservation, huile essentielle, cynamaldéhyde.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes parents, ceux à qui je dois tant pour leur amour et leur support continu tout le long du cursus de mes études

Mes sœurs et mon frère qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles

Mes tantes et oncles, spécialement "Khalou et Nina", ceux à qui je dois tant pour leur soutien continu et leur grande confiance

Remerciement

*Tout d'abord, **el hamdolillah** ; m'a orienté vers le droit chemin le long de mon travail et m'a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas été aboutit*

*Cordialement je tiens a remercié **mes chers parents**, pour tout ; pour ce que je suis aujourd'hui ; sans eux rien ne pouvait être réalisé comme il est ainsi*

*Ma gratitude est pour l'encadrement scientifique de ma thèse qui a été assuré par Mr **Mechai Abelbasset**, Professeur à la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie à l'Université Larbi Tébessi (Tébessa) et Mme **Debabza Manel**, maitre de conférence -A- à la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie à l'Université Larbi Tébessi (Tébessa), que Je tiens à leur exprimer ma reconnaissance pour le privilège de diriger mon travail , ainsi que pour leur aide et leurs conseils tout au long de son développement.*

Mes remerciements vont aussi à

- * Mr **Djabri Belgacem**, Professeur à la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie à l'Université Larbi Tébessi(Tébessa) pour ses encouragement et d'avoir consacré son temps pour présider ce jury.*
- * Mr **Arhab Rabeh**, Professeur à l'Université Larbi Ben M'hidi (Oum El Bouaghi)*
- * Mr **Houhamdi Moussa**, Professeur à l'Université 8 Mai 1945 (Guelma)*
- * Mme **Benhadj Mabrouka**, maitre de conférence -A- à la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie à l'Université Larbi Tébessi (Tébessa)*

pour leur disponibilité et d'avoir bel et bien siéger dans ce jury pour discuter ma thèse ; m'éclairer et même me critiquer ça ne sera que des précieux conseil pour moi..

*Un remerciement spécial et chaleureux à mon amie : **Fares Roufaïda** pour tous les bons moments qu'on a partagés ensemble, pour son soutien et pour son amitié sincère.*

Enfin Ma profonde gratitude, mes sentiments les plus amicaux et mes infinis remerciements vont à toute personne m'a aidé à réaliser ma thèse.

Table de Matière

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicace

Remerciement

Table de Matière

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Introduction Générale

2

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

18

Fiche technique n° 01 : Prise des échantillons, isolement et condition de croissance

1. Présentation des échantillons **18**

1.1.Jben **18**

1.2.Klila **21**

1.3.Bouhezza **21**

1.4.Beurre traditionnel "Zebda" et "Dhan" **22**

2. Isolement et purification des souches lactiques **25**

2.1.Milieus et conditions de cultures **25**

2.2.Isolement **25**

2.3. Purification **26**

2.3.1. Détermination de type fermentaire **26**

2.3.2.Croissance dans les déférentes conditions de pH et de salinité **26**

2.3.3.Croissance à différentes températures **26**

3. Conservation **27**

3.1.Conservation à court terme **27**

3.2.Conservation à long terme **27**

Fiche technique n° 02 : Etude des aptitudes technologiques des bactéries lactiques

1. Activité acidifiante **28**

2. Activité protéolytique **28**

3. Activité lipolytique **28**

4. Activité texturant **30**

5. Activité aromatisant **30**

Fiche technique n° 03 : Potentiels probiotiques des bactéries lactiques isolées

1. Résistance à l'acidité **31**

2. Résistance à l'effet combiné de pH acides et de sels biliaires **31**

3. Adhésion *in vitro* aux cellules épithéliales **31**

4. Criblage de l'activité antimicrobienne **32**

4.1.Préparation de surnageant **32**

4.2.Activité antibactérienne **32**

4.3.Activité antifongique **32**

5. Résistance aux antibiotiques (ATB) **33**

Fiche technique n° 04 : Identification des bactéries lactiques sélectionnées

1. Identification biochimique par la galerie API 50CHL **35**

2. Identification protéomique des souches Maldi-TOF-MS **36**

Fiche technique n° 05 : Préparation d'un fromage frais à base de ferments mixtes et évaluation de sa qualité

1. Choix des ferments mixtes	37
1.1. Etude des interactions entre les souches de ferments reconstitués	37
1.2. Activités biotechnologiques des ferments mixtes (FM)	38
2. Essais de fabrication de fromages frais de type "Jben"	38
3. Contrôle Physico-chimique des fromages frais préparés	40
3.1. Teneur en Azote total	40
3.2. Détermination de la matière grasse	40
3.3. Détermination de la matière minérale	41
3.4. Détermination de la matière sèche	41
3.5. pH et acidité titrable	41
4. Contrôle microbiologique des fromages frais préparés	41
4.1. Préparation des échantillons	42
4.2. Dénombrement des Coliformes (<i>E. Coli</i>)	42
4.3. Dénombrement de Staphylocoque à coagulase positive	42
4.4. Recherche des <i>Salmonella</i> sp.	43
4.5. Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i>	43
5. Evaluation sensorielle des fromages frais préparés	43
6. Effets de l'addition de l'huile essentielle de <i>Cinnamon cassia</i> sur les fromages frais préparés	44
6.1. Extraction de l'huile essentielle (HE)	44
6.2. Identification des composées de l'HE par la Chromatographie gazeuse couplée au spectre de masse (CG/MS)	44
6.3. Incorporation de l'HE de <i>Cinnamon cassia</i> dans les fromages frais préparés	45
6.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HECC	45
6.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'HECC	46
6.4. Contrôle des fromages préparés traités par l'HE de <i>Cinnamon cassia</i>	46
7. Etude Statistique	46
Résultats et Discussion	47
I. Isolement et caractérisation des BL	47
II. Caractérisation biotechnologique des BL isolées	51
1. Activité acidifiante	51
2. Activité protéolytique	56
3. Activité lipolytique	60
4. Activité texturant	65
5. Activité aromatisant	67
III. Potentiel Probiotiques des BL isolées	68
1. Résistance à l'acidité	68
2. Résistance à l'effet combiné de pH acides et de sels biliaires	72
3. Adhésion <i>in vitro</i> aux cellules épithéliales	75
4. Criblage de l'activité antimicrobienne	78
4.1. Activité antibactérienne	78
4.2. Activité antifongique	82
5. Résistance aux antibiotiques (ATB)	85
IV. Identification des BL sélectionnées	88
V. Préparation d'un fromage frais à base de ferments mixtes et évaluation de sa qualité	98
1. Choix des ferments mixtes	98
2. Préparation des fromages frais de type "Jben"	102

3. Extraction et Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle	102
4. Incorporation de l'HECC dans les fromages frais préparés	105
5. Contrôle Physico-chimique des fromages frais préparés sans et avec HECC	105
5.1.Composition Chimique des échantillons préparés	105
5.2.pH et acidité titrable	110
6. Contrôle Microbiologique des fromages frais préparés sans et avec HECC	111
7. Contrôle Sensorielle des fromages frais préparés sans et avec HECC	114
Conclusion Générale et Perspectives	118
Références Bibliographiques	124
Annexes	

Liste des Tableaux

N°	Titre de Tableau	Page
1	La répartition des échantillons	25
2	Les souches indicatrices et leurs origines	34
3	Profil phénotypique des souches isolées	48
4	La répartition des souches lactique selon le genre et selon leur origine	48
5	Activités protéolytique, aromatique et production d'exopolysaccharide par les 21 souches sélectionnées	59
6	Adhésion <i>in vitro</i> aux cellules épithéliales des 21 souches lactiques sélectionnées	77
7	Résultats d'antibiogramme des isolats lactiques	87
8	Résultats de test d'identification physiologiques et biochimiques des souches lactiques sélectionnées	92
9	Résultats de test d'identification Maldi-Tof Ms des souches lactiques sélectionnées	96
10	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cinnamon cassia</i>	104
11	L'activité antimicrobienne et les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'HECC contre les BL des levains	105

Liste des Figures

N°	Titre de Figure	Page
1	Schéma récapitulatif présentant les différents tests de caractérisation des souches isolées et de la production d'un fromage frais	20
2	Schéma des procédés de fabrication des principaux produits laitiers algériens	23
3	Diagramme de fabrication de "Bouhezza"	24
4	Détermination du pouvoir acidifiant	29
5	Diagramme de fabrication d'un fromage frais	39
6	La répartition des BL isolées en fonction du genre	47
7	Le pouvoir acidifiant des BL isolées en fonction de temps (H), A : Par les membres du genre <i>Lactobacillus</i> , B : Par les membres du genre <i>Pediococcus</i> , C : Par les membres du genre <i>Enterococcus</i> et D : Par les membres du genre <i>Lactococcus</i>	52
8	Cénitique de production d'acide lactique : A : souches du genre <i>Lactobacillus</i> (LbK126, LbZ124, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124) et <i>Pediococcus</i> (PeJ138). B : souches genre <i>Enterococcus</i> (EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119) et <i>Lactococcus</i> (LcJ26, LcJ45 et LcD135).	54
9	Variation de pH de milieu en fonction de temps (H), A : souches du genre <i>Lactobacillus</i> (LbK126, LbZ124, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124) et <i>Pediococcus</i> (PeJ138). B : souches genre <i>Enterococcus</i> (EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119) et <i>Lactococcus</i> (LcJ26, LcJ45 et LcD135)	55
10	Activité protéolytique des BL isolées, A : Par les membres du genre <i>Lactobacillus</i> , B : Par les membres du genre <i>Pediococcus</i> , C : Par les membres du genre <i>Enterococcus</i> et D : Par les membres du genre <i>Lactococcus</i> - : absence d'activité, + : faible activité, ++ : activité moyenne, +++ : forte activité	57
11	Activité protéolytique de quelques isolats lactiques sur milieu MRS au lait écrémé.	58
12	Activité Lipolytique des BL isolées, A : Par les membres du genre <i>Lactobacillus</i> , B : Par les membres du genre <i>Pediococcus</i> , C : Par les membres du genre <i>Enterococcus</i> et D : Par les membres du genre <i>Lactococcus</i>	61
13	Activité lipolytique des souches sélectionnées du genre <i>Lactobacillus</i> (LbK126, LbZ124, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124) et <i>Pediococcus</i> (PeJ138)., A : avec la source lipidique naturelle "Huile d'olive" B : avec la source lipidique artificielle "Tween 80"	62
14	Activité Lipolytique des souches sélectionnées du genre <i>Enterococcus</i> (EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119) et <i>Lactococcus</i> (LcJ26, LcJ45 et LcD135). A : substrat lipidique naturel "Huile d'olive" B : substrat	63

	lipidique artificiel "Tween 80"	
15	Activité lipolytique de quelques BL isolées avec comme source lipidique artificielle le Tween 80	64
16	Activité lipolytique de quelques BL isolées avec comme source lipidique naturelle l'huile d'olive	64
17	Production des Exopolysaccharides par les BL isolées, A : Par les membres du genre <i>Lactobacillus</i> , B : Par les membres du genre <i>Pediococcus</i> , C : Par les membres du genre <i>Enterococcus</i> et D : Par les membres du genre <i>Lactococcus</i>	66
18	Production des Exopolysaccharides par quelques souches de BL isolées	66
19	Activité aromatique de quelques BL isolées	67
20	Résistance des souches lactiques aux milieux acides, A : Par les membres du genre <i>Lactobacillus</i> , B : Par les membres du genre <i>Pediococcus</i> , C : Par les membres du genre <i>Enterococcus</i> et D : Par les membres du genre <i>Lactococcus</i>	69
21	Résistance des souches lactiques sélectionnées aux milieux acides, A : du genre <i>Lactobacillus</i> et <i>Pediococcus</i> et B : du genre <i>Enterococcus</i> et <i>Lactococcus</i>	70
22	Résistance aux baisses pH par quelques BL isolées après 3 heures de test	71
23	Résistance à la bile par les BL isolées, A : Par les membres du genre <i>Lactobacillus</i> , B : Par les membres du genre <i>Pediococcus</i> , C : Par les membres du genre <i>Enterococcus</i> et D : Par les membres du genre <i>Lactococcus</i>	73
24	Résistance à la bile par 21 souches sélectionnées, A : du genre <i>Lactobacillus</i> et <i>Pediococcus</i> et B : du genre <i>Enterococcus</i> et <i>Lactococcus</i>	74
25	Résistance à la bile par quelques BL isolées après 4 heures de test	75
26	Adhésion <i>in vitro</i> aux cellules épithéliales par quelques BL isolées	77
27	Activité antimicrobienne des 21 souches lactiques sélectionnées	81
28	Activité antibactérienne de quelques isolats lactiques	82
29	Activité antifongique de quelques isolats lactiques, A : contre <i>Aspergillus flavus</i> , B et C : contre <i>Aspergillus fumigatus</i> , D : contre <i>Alternaria alternaria</i> , E : contre <i>Aspergillus terreus</i> , F , G et H : contre <i>Neosartorya pseudofischeri</i> , I et J contre <i>Candida albicans</i> Ca01	85
30	Antibiogramme de quelques isolats lactiques	87
31	Résultats du profil fermentaire de six souches lactiques sur la galerie API 50 CHL après 48 h d'incubation	94
32	Carte thermique tracée les activités physiologique et la fermentation des carbohydrates par les 21 BL sélectionnés	95
33	Spéctres de masse de quinze souches lactiques	97
34	Pouvoir acidifiant de douze ferments mixtes, A : La production de l'acide lactique par les douze ferments mixtes en fonction de temps (H), B : L'évolution de pH de milieu sous douze ferments mixtes en fonction de temps (H)	99

35	Caractéristiques protéolytiques et lipolytiques des douze ferments mixtes ; HO1% ; Huile d'olive 1%, HO3% ; Huile d'olive 3%, HO5% ; Huile d'olive 5%, T80 1% ; Tween 80 1%; T80 3% ; Tween 80 3%, T80 5% ; Tween 80 5%; LC10% ; Lait écrémé 10%.	100
36	Carte thermique tracée les activités protéolytiques, lipolytiques, la production des EPS et d'arômes par les douze FM, LC12% ; Lait écrémé 12%, LCA ; Lait écrémé pour l'activité Aromatisant.	101
37	Spectre d'identification de l'huile essentielle de <i>Cinnamon cassia</i>	103
38	Composition chimique du lait de vache, de fromages frais nature et de fromages frais additionnés d'HECC	107
39	Analyse en Composantes principales pour les échantillons de fromages frais préparés traité ou non par HECC pour les variables teneur en Azote totale, teneur en protéine brute, teneur en matière sec, humidité, teneur en matière grasse et en matière minérale.	109
40	Valeurs de pH et d'acide lactique des fromages élaborés pendant les 21 jours de conservation	110
41	Données expérimentales et courbes de croissance ajustées de BL dans les fromages préparés conservée à 4 °C additionnée ou non de l'HECC	113
42	Scores de l'acceptabilité générale des fromages fabriqués avec les levains lactiques additionnés ou non avec HECC	114
43	Aspect macroscopique des fromages frais préparés, A : Le jour de préparation, B : Après vingt-un jours de stockage	115

Liste des Abréviations

AA	Acide Aminé
ACP	Analyse En Composantes Principales
ADN	Acide Désoxyribonucléique
Amoxicilline + acide clavulanique	Amoxicilline + Acide Clavulanique
ARN	Acide Ribonucléique
ATB	Antibiotiques
ATCC	<i>American Type Of Culture Collection</i>
ATP	Adénosine Triphosphate
BGLBB	<i>Brillant Green Lactose Bile Broth</i>
BL	Bactéries Lactiques
BLSE	Bêtalactamases A Spectre Elargi
CaCl₂	Calcium Chloride
CaCO₃	Carbonate De Calcium
CEP	Protéinase De L'enveloppe Cellulaire
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CG/MS	Chromatographie En Phase Gazeuse Couplé Avec Le Spectre De Masse
CRL	Charles River Laboratories (American Biomedical Company)
D	<i>Day</i>
Da	Dalton
DO	Densité Optique
<i>Enterococcus</i>	<i>En</i>
EPS	Exopolysaccharides
<i>Escherichia</i>	<i>E</i>
FAO	<i>Food And Agriculture Organisation</i> (Organisation Des Nations Unies Pour L'alimentation Et L'agriculture)
FC1	Fromage Frais 1
FC2	Fromage Frais 2
FIL	Fédération Internationale De Laiterie
FM	Ferment Mixte
G	Gram/ Valeur D'accélération De La Centrifugeuse
GN	Gélose Nutritive
GRAS	<i>Generally Regarded As Safe</i>
HCL	Chlorure D'hydrogène
HE	Huile Essentielle
HECC	Huile Essentielle De Cinnamome Cassia
IDFA	<i>International Dairy Foods Association</i>
KOH	Hydroxyde De Potassium
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Ln</i>
<i>Listeria</i>	<i>L</i>
M	Molle
Maldi-Tof-MS	<i>Matrix Assisted Laser Desorption And Ionization Time-Of-Flight Mass</i>

	<i>Spectrometry</i>
MG	Matière Grasse
MH	Mueller Hinton
ml	Millilitre
MM	Matière Minérale
mm	Millimètre
MRS	Man, Rogosa Et Scharpe
MS	Matière Sèche
M17	Milieu Complexe A Base D'extrait De Viande, De Peptone Et D'extrait De Levure.
Nacl	Chlorure De Sodium
NaOH	Hydroxyde De Sodium
NaH₂PO₄	Monosodium Phosphate
Na₂Hpo₄	Disodium Hydrogen Phosphate
NH₄OH	Hydroxyde D'ammonium
NPP	Nombre Le Plus Probable
NT	Nitrogen total (Azote Total)
Oenococcus	<i>O</i>
OMS	Organisation Mondiale De La Santé
PBS	Tampon Phosphate Salin
<i>Pediococcus</i>	<i>P</i>
rpm	Rotation Per Minute
SAN	Surnageant Acellulaire Natif
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant A La Méricilline
SN	Surnageant Natif
<i>Staphylococcus</i>	<i>S</i>
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>
TSYEA	<i>Tryptone Soy Yeast Extract Agar</i>
UFC	Unité Formant Colonie
ul	Microlitre
VP	Voges-Proskauer

Introduction Générale

Introduction Générale

Les produits laitiers sont désormais des produits commerciaux clés dans plusieurs pays. Chiffrant la production mondiale de lait en 2016 à 826 milliards de litres et qui devrait augmenter de 177 milliards de litres d'ici 2025. La consommation de ces produits laitiers par personne devrait augmenter de 0,8 % à 1,7 % par an dans les pays en développement et de 0,5 % à 1,1 % dans les économies développées au cours de la même période. En conséquence, les produits laitiers fermentés sont consommés dans le monde entier par 6 milliards de personnes dans le monde et fournissent 6 à 7% des protéines alimentaires en Asie et en Afrique et 19% en Europe - et font l'objet d'importantes recherches, notamment sur leur variété microbienne, leurs bienfaits pour la santé, leur qualité et leur sécurité (**Leyva Salas, 2018 ; Sahu et Panda, 2018**).

Les aliments fermentés sont des aliments produits par la conversion enzymatique des composants alimentaires majeurs et mineurs en produits aux caractéristiques organoleptiques par un agent microbien à croissance régulée (**Marco et al., 2017 ; Lübeck et Lübeck, 2019**). Bien qu'il soit extrêmement difficile d'identifier les débuts précis de la prise de conscience humaine de la présence et du rôle des microbes dans les aliments, il existe aujourd'hui quatre principaux types de fermentation alimentaire basés sur les principaux micro-organismes responsables : la fermentation bactérienne, la fermentation de levure, la fermentation fongique et la fermentation en culture mixte (**Hui et Evranuz, 2012**). Cependant, les enquêtes scientifiques sur les interactions bénéfiques des aliments fermentés ont clairement pointé vers les aliments issus de fermentations par les bactéries lactiques (BL) (**Kalbaza et al., 2018**).

Les BL sont de bonnes cultures *starter* pour les aliments fermentés tels que les produits laitiers, les boissons, la viande et les légumes en raison de leurs processus fondamentaux (**Lübeck et Lübeck, 2019**). Ces germes jouent un rôle limitant dans la production et la conservation des aliments, ce qui a suscité l'intérêt scientifique pour leur étude au cours des dernières décennies. La notion de BL dans les travaux scientifiques s'est formée au début des années quatre-vingt-dix, après que Joseph Lister ait obtenu la première culture en 1873 de *Bacterium lactis*, maintenant connue sous le nom de *Lactococcus lactis*, (**Hammi, 2016 ; Kalbaza, 2018**).

Les BL sont abondantes dans la nature. Elles peuvent être trouvées librement dans l'environnement ou en association avec un hôte. Elles occupent diverses niches écologiques, dont le lait et les produits laitiers, les légumes, la viande, le poisson, et le système gastro-intestinal ou vaginal des mammifères, ce qui s'explique, entre autres, par des températures

Introduction Générale

idéales de développement variées selon les souches (**Lamari, 2014**). La biochimie du groupe carbonyle des BL et les produits métaboliques sont essentiellement découplés ce qui permet à ces microorganismes de s'adapter à un large éventail d'environnements nutritionnels (**Sauer et al., 2017**).

Les BL, initialement décrites par Orla-Jensen au tournant du XX^{ème} siècle, constituent un groupe diversifié caractérisés par la formation d'acide lactique en tant que métabolite primaire du métabolisme des sucres. Ce sont des bactéries à Gram positif qui sont généralement immobiles, asporulées, anaérobies facultatives et dépourvues de catalase, de nitrate-réductase et de cytochrome-oxydase (**Axelsson, 2004**). Celles dans l'alimentation sont réputées non pathogènes et sont appelées organismes GRAS (Generally Regarded As Safe) en anglo-saxon (**Aguirre et Collins 1993**). La majorité des BL ont des besoins nutritionnels spécifiques, voir élevés en vitamines, en bases azotées, en minéraux et même en dérivés d'acides nucléiques. Elles ne peuvent pas fabriquer tous les acides aminés à partir de sources d'azote plus simples. Certains contiennent des protéases, des endopeptidases et/ou des exopeptidases, qui leur permettent d'obtenir de l'azote à partir de peptides ou de protéines étrangers (**Leyva Salas, 2018**). Un autre aspect remarquable de nombreux BL est leur capacité à utiliser plusieurs hexoses et pentoses, ce qui constitue le point de départ idéal pour l'exploitation des polysaccharides lignocellulosiques, la ressource renouvelable la plus abondante au monde et surnommée "le futur pétrole" (**Abdel-Rahman et al., 2011**).

La taxonomie des BL s'est développée depuis la description du genre *Bacterium lactis*. En 1919, Orla-Jensen a classé pour la première fois les BL, selon des critères morphologiques, biochimiques et physiologiques, ainsi que des marqueurs chimiotaxonomiques. Avec l'avènement de la biologie moléculaire, de nouvelles techniques telles que l'hybridation ADN/ADN, le séquençage de l'ARN 16S des gènes codant pour les protéines ribosomales ou d'autres études du génome ont permis d'aborder la taxonomie bactérienne sous un angle différent. Néanmoins, les BL ne peuvent pas être classées comme un groupe phylogénétique et leur classification actuelle est le résultat d'une taxonomie polyphasique (**Pot, 2008 ; Tahlaïti, 2019**).

Les BL appartiennent au phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales*. Il existe environ 500 espèces de BL classées en genres et regroupées en six grands groupes Gram (+) avec une faible teneur en guanine et en cytosine (% GC), les BL ayant un GC de 33 à 55 % (**Felis et al., 2015**) :

Introduction Générale

- * *Lactobacillaceae* qui comprend les genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*.
- * *Aerococcaceae* qui comprend les genres *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.
- * *Carnobacteriaceae* qui comprend les genres *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granlucateella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium*, *Marinilactibacillus*, *Pisciglobus* et *Trichococcus*.
- * *Enterococcaceae* qui comprend les genres *Bavariicoccus*, *Catelliococcus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.
- * *Leuconostocaceae* qui comprend les genres *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* et *Weissella*.
- * *Streptococcaceae* qui comprend les genres *Lactococcus*, *Lactovum* et *Streptococcus*.

Les familles trouvées dans les fermentations alimentaires comprennent les *Enterococcaceae*, *Leuconostocaceae*, *Lactobacillaceae* et *Streptococcaceae*, tandis que les bactéries des familles *Aerococcaceae* et *Carnobacteriaceae* provoquent des saveurs indésirables dans le produit fini et sont classées comme des familles indésirables dans les fermentations (**Khandelwal et al., 2016**).

Bien que les espèces de *Bifidobacterium* appartiennent à un phylum distinct appelé *Actinobacteria*, qui a un pourcentage élevé de GC, le terme de BL est souvent appliqué à ce genre apparenté, qui est également certifiés GRAS et utilisé dans la production de nombreux produits fermentés en utilisant la voie bifide ou Fructose 6- phospho- céto-lase qui permet d'avoir 1.5 molécules d'acétate et 2.5 molécules d'ATP à partir d'une molécule d'hexose consommée (**Holzappel et al., 2001 ; Hammi, 2016 ; Tahlaiti, 2019**).

Sur la base de l'analyse des séquences d'ARNr 16S, les connexions phylogénétiques de ces importantes BL démontrent que *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Lactosphaera* sont tous étroitement liés. *Lactococcus* et *Streptococcus* ont tendance à être liés, bien que *Lactobacillus* semble être phylogénétiquement séparé (**Lamari, 2014**). *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* et *Bifidobacterium* sont les genres les plus importants pour la recherche et l'application industrielle (**Chen, 2019**).

Introduction Générale

Lactobacillus est le genre le plus répandu de BL. Ce dernier à lui seul compte de nombreuses espèces aux propriétés morphologiques, biochimiques et génétiques distinctes (**Lamari, 2014**). Les lactobacilles sont des bactéries microaérophiles à Gram positif qui peuvent être trouvées dans un large éventail d'environnements, y compris les environnements laitiers riches en nutriments, les habitats microbiennes d'hôtes comme les muqueuses humaines et les niches biologiques naturelles comme les plantes et le sol (**Barrangou et al., 2012**). Le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck en 1901, et il a ensuite subi de nombreuses modifications taxonomiques à la suite des développements technologiques phylogénétiques. Leur classification repose désormais sur le séquençage des gènes *pheZ* et *rpoA*, en plus du gène de l'ARN ribosomique 16S (**Fangous, 2019**).

En 2012, Les lactobacilles ont été classés en 152 espèces et en 14 groupes génotypiques dominant par le groupe *Lb. delbrueckii* contenant 27 espèces principalement homo-fermentaires (20/27) ; et le groupe *Lb. salivarius* contenant 25 espèces, dont de nombreuses espèces mobiles et elles sont majoritairement homo-fermentaires (16/25), et le groupe *Lb. reuteri* qui contient 15 espèces hétéro-fermentaires (**Salvetti et al., 2012**). Au 12 aout 2019, 241 espèces avaient été officiellement reconnues sur la « List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature ». Onze espèces regroupaient également des sous espèces (**Fangous, 2019**). Il a été proposé qu'un large éventail de souches de *Lactobacillus* soient couramment utilisées comme probiotiques en raison de leurs propriétés intrinsèques de promotion de la santé (**Barrangou et al., 2012**).

À l'exception des genres *Streptococcus* et *Enterococcus*, il y a eu extrêmement peu de cas d'infections aux BL. Le genre *Streptococcus* détient le statut GRAS seulement pour l'espèce *Streptococcus thermophilus*, qui est fréquemment répandue dans le lait et les produits laitiers en tant qu'agent acidifiant. Elle est fréquemment employée dans l'industrie alimentaire dans les fromages, les yaourts et les laits fermentés comme le kéfir, où certaines souches de *S. thermophilus* peuvent cataboliser le galactose après avoir épuisé le glucose contenu dans le milieu. Une diversité génétique considérable au sein de cette espèce était attendue en raison de son utilisation généralisée (**Lecomte, 2014 ; Goldstein et al., 2015**).

Les bactéries du genre *Enterococcus*, dont il existe une cinquantaine d'espèces, peuvent être trouvées dans une variété d'habitats. On les trouve à la fois dans le sol et dans le microbiote intestinal animal et humain, fonctionnant comme des bactéries commensales ou pathogènes selon l'environnement. Parce que certaines espèces produisent des bactériocines,

Introduction Générale

ces bactéries sont également exploitées dans l'agroalimentaire et entrent dans la formulation de certains probiotiques (**Lebreton et al., 2013 ; Celiberto et al., 2017**). L'utilisation d'espèces responsables d'infections cliniques, comme *En. faecalis* et *En. faecium*, comme probiotiques pour l'homme reste limitée, mais *En. faecalis* est largement utilisé comme complément alimentaire pour les animaux, et *En. faecium* entre dans la composition des probiotiques alimentaires qui semblent efficaces non seulement dans la prévention des diarrhées liées à l'utilisation d'antibiotiques, mais aussi dans le traitement des diarrhées infantiles (**Isnard, 2017**). Les entérocoques également peuvent contribuer à la maturité et au développement de la saveur de certains aliments traditionnellement fermentés comme les fromages et la charcuterie (**Svec et Franz, 2014**).

Toutes les BL ont un métabolisme fermentaire qui dépend fortement des glucides. Selon leur voie de métabolisation des glucides, elles sont classées en deux catégories ; homo-fermentaire (ou homolactique) et hétéro-fermentaire (ou hétéro-lactique) (**Fessard, 2017**).

- * Le principal produit final de la voie homo-fermentaire est le lactate. La voie homo-fermentaire imprime le processus de glycolyse, également connu sous le nom de voie Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Elle est couramment associée aux bactéries *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*.

Au cours de ce processus, le glucose est converti en deux molécules de pyruvate, tandis que l'ADP est phosphorylé en deux molécules d'ATP. La lactate déshydrogénase convertit ensuite le pyruvate en lactate, permettant aux cofacteurs d'être réoxydés. Ce mécanisme doit convertir au moins 90% du glucose consommé en lactate pour être classé comme homolactique. Ce processus peut également être utilisé pour fermenter des sucres autres que le glucose, y compris sous forme de monosaccharides et de disaccharides (**Hammi, 2016 ; Fessard, 2017**). Ce qui rend les BL attrayants pour l'industrie, c'est leur capacité à utiliser une grande quantité de sucre pendant le processus de la fermentation pour la production de biomasse, ce qui entraîne une perte de matière primaire minimale (**Sauer et al., 2017**).

- * La voie d'hétéro-fermentation se produit lorsqu'une molécule de glucose est fermentée en une molécule d'acide lactique, une molécule d'éthanol/acétate, une molécule de CO₂ et une molécule d'ATP. Pour convertir le glucose, la voie hétéro-fermentaire imprime la voie des pentoses phosphates. Les *Leuconostoc* et certains lactobacilles sont les principales catégories de BL qui démontrent cette forme de métabolisme (**Hammi, 2016 ; Fessard, 2017**).
-

Introduction Générale

Différents aspects technologiques qui peuvent être pertinents pour le produit final doivent de plus être pris en compte lors de la sélection de BL pour les fermentations alimentaires. Les activités acidifiantes, protéolytiques, lipolytiques, l'aptitude aromatique et texturante sont quelques-unes des caractéristiques qui contribuent à la conservation, à la saveur et à la qualité nutritionnelle du produit (**Lavermicocca et al., 2021**).

Les BL sont utilisées comme ferments dans les industries principalement en raison de leur capacité d'acidification des aliments, qui présente plusieurs avantages : elles précipitent les protéines après neutralisation de leurs charges négatives, rendant les aliments plus digestes, elles prolongent la durée de conservation en limitant la prolifération des microorganismes responsables de la détérioration, et elles contribuent également au développement des arômes (**Widyastuti et Febrisiantosa, 2014 ; Hammi, 2016**). Ces dernières années, la consommation indirecte des acides organiques produits principalement par les BL en fermentation sous forme de laits fermentés a retrouvé la faveur pour diverses raisons, notamment la prévention des toxines produites par les agents pathogènes d'origine alimentaire et les bactéries de détérioration qui pénètrent le corps humain (**Widyastuti et Febrisiantosa, 2014**).

Les BL contribuent à l'arôme et à la saveur des produits laitiers fermentés en métabolisant les molécules d'arôme ou les précurseurs d'arôme. Des alcools, des aldéhydes, des acides, des esters et des composés soufrés sont produits à la suite de la protéolyse de la caséine, du métabolisme des peptides et des acides aminés et du catabolisme des acides aminés (**Leyva Salas, 2018**). Les principaux acides aminés pour les composés gustatifs comprennent les acides aminés à chaîne ramifiée (valine, leucine et isoleucine), les acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane et phénylalanine) et les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) (**Liu et al., 2008**).

Les BL ont un mécanisme protéolytique qui hydrolyse les caséines du lait et le lactosérum pour répondre à leurs besoins en azote. Ce système est composé de protéases de paroi, d'un système de transport d'acides aminés et d'oligopeptides, ainsi que de peptidases intracellulaires qui décomposent les peptides intériorisés mais peuvent également être libérés dans l'environnement en raison de l'autolyse des bactéries dans certaines conditions (**Kalbaza, 2018 ; Meghoufel, 2019**).

La capacité protéolytique de nombreuses espèces de *Lactobacillus* et *Lactococcus*, en particulier *Lc. lactis*, a été largement étudiée et joue un rôle important dans la synthèse du goût lors de la fabrication du fromage (**Léonard, 2013 ; Kieliszek et al., 2021**). Les peptides

Introduction Générale

produits par les BL peuvent également être classés comme bioactifs avec des effets immunologiques, tels que ceux produits par *Lb. plantarum*, qui aide à prévenir la formation de toxine *Clostridium botulinum* dans les aliments réfrigérés, ou ceux produits par *Lb. bulgaricus*, qui peut aider dans le développement de produits laitiers hypoallergéniques (Kalbaza, 2018).

Contrairement à leur capacité protéolytique intense, les BL ne sont pas particulièrement lipolytiques, en particulier dans le lait, où elles n'hydrolysent pas ou peu de la matière grasse, composée à 96 % de triglycérides. Elles peuvent cependant l'hydrolyser après que d'autres lipases ou estérases l'aient pré-hydrolysé. Le niveau d'activité lipolytique varie selon le type lactique ; par exemple, elle est plus élevée chez *S. thermophilus* et lactobacilles que chez *Lactococcus*, qui ne contient qu'une seule enzyme codée par un seul gène (Meghoufel, 2019).

En général, les quelques lipases de BL sont des estérases qui hydrolysent les esters à moins de huit carbones, des bactéries telles que *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* et *Lb. delbrueckii* par rapport à l'activité lipase, ont démontré des niveaux élevés d'activité estérase (Hofi et al., 2011). Leur site actif comprend la sérine, et ils se trouvent principalement à l'intérieur de la bactérie, bien que Gobbeti et al (1997) aient découvert une estérase à la surface d'une souche de *Lb. plantarum* (Meghoufel, 2019). Ces enzymes peuvent également catalyser quatre types de réactions de synthèse d'esters : estérification par condensation d'un alcool sur un acide gras ; l'alcoololyse entre un alcool et une glycérine, dans laquelle l'alcool agit de manière similaire à l'eau en hydrolyse ; acidolyse par réaction d'un ester et d'un acide ; et transestérification par la réaction de deux esters. Les deux mécanismes impliqués dans la formation des esters dans le fromage sont l'estérification et l'alcoololyse (Abeijon Mukdsi et al., 2016).

La lipolyse est essentielle dans l'affinage du fromage car les acides gras sont convertis en molécules aromatiques contribuent à la saveur du produit fermenté (Holzapfel et Wood, 2014). Dans le cas du fromage bleu et du camembert, une dégradation importante des graisses se produit après la lipolyse, entraînant la libération de composants saturés et insaturés ainsi que d'acides gras libres. Grâce à une séquence de processus enzymatiques, les acides gras saturés produisent des méthylcétones et des alcools secondaires. Les lactones, les aldéhydes, les alcools et les acides sont produits par les acides gras insaturés. Les alcools peuvent alors réagir avec les acides gras libres pour produire des esters aromatiques tels que l'acétate d'éthyle et l'acétate de butyle (Kalbaza et al., 2018). Les principaux agents lipolytiques des

Introduction Générale

fromages cheddar et hollandais fabriqués à partir de lait pasteurisé sont les lipases et estérases des lactocoques et des lactobacilles (**kalbaza, 2018**).

Les enzymes hydrolytiques produites par les BL peuvent modifier la texture des denrées alimentaires, ce qui donne une activité bénéfique supplémentaire (**Kocabaş et al., 2021**) ; néanmoins, la capacité texturante véridique des BL réside dans la production des exopolysaccharides (EPS) (**Widyastuti et Febrisiantosa, 2014**).

Les EPS produits par les BL ont une large gamme d'applications dans les industries alimentaires et médicinales. Une enzyme extracellulaire appelée glucane-sucrase transforme le saccharose en trois types de glucane : dextrane, mutane et alternane. Les quatre genres de BL connues pour fabriquer des glucanes sont les *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactobacillus* (**Das et Goyal, 2012**). Les espèces de *Lactobacillus* productrices d'EPS ont piqué la curiosité des chercheurs ; jusqu'à récemment, environ 30 espèces ont été identifiées, à titre d'exemple *Lb.casei*, *Lb.acidophilus*, *Lb.brevis*, *Lb.cruvatus* et *Lb.plantarum* (**Badel et al., 2011**).

Les fonctions des EPS *in vivo* ne sont encore pas vraiment connues, (**Zang et al., 2013**) ont démontré l'importance de l'EPS de la bactérie *Lb.plantarum* C88 isolée du tofu fermenté Chinois traditionnel dans la résistance au peroxyde d'hydrogène ainsi que dans l'activité de piégeage des radicaux. L'EPS peut également aider *in vivo* à la colonisation et contribuer à la formation de biofilms en raison de la fixation des bactéries les unes aux autres ou aux tissus hôtes et produisant une matrice isolante (**Xue et al., 2013**).

Dans l'industrie, les EPS ont trouvé leur application la plus utile pour augmenter la rhéologie, la texture et la "sensation en bouche" des produits laitiers fermentés. En conséquence, les BL productrices d'EPS sont des micro-organismes industriels importants dans le développement d'aliments fonctionnels, et ils sont utilisés comme cultures de départ ou coadjuvants dans la production d'aliments fermentés, notamment le yaourt, le fromage et les produits à base de céréale (**Zannini et al., 2016**). L'EPS de BL est une source précieuse d'alternatives naturelles aux additifs commerciaux d'origine végétale ou animale. L'utilisation de BL productrices d'EPS peut donner un produit final sûr, naturel et sain avec une texture et une stabilité accrues, ce qui peut avoir un impact substantiel sur le développement de nouveaux produits (**Kalbaza, 2018**).

Introduction Générale

L'EPS produit par les BL peut également avoir une variété d'avantages et de fonctions pour la santé humaine et animale " y compris les propriétés immunomodulatrices, anticancéreuses, activité antioxydante, antiulcéreuse, agents anti-biofilm pour prévenir les agents pathogènes d'adhésion des bactéries, propriétés hypoglycémiantes et antihypertensives". En raison de ces qualités, les BL productrices peuvent de façons égales qualifiées comme probiotiques (**Saadat et al., 2019**).

La recherche d'aliments bénéfiques pour la santé s'est intensifiée ces dernières années. L'étude du microbiote intestinal devient de plus en plus populaire et certains aliments fermentés, comme le yaourt, ont été associés à un transit intestinal amélioré. Ces avantages pour la santé ont été liés aux BL contenues dans ces aliments, et le label probiotique leur a été donné (**Flint, 2012**).

Vers 1908, Metchnikoff fut probablement le premier à proposer d'utiliser des laits fermentés contenant une souche de lactobacilles capables de survivre dans le tube digestif comme composants d'une alimentation saine, aujourd'hui l'utilisation des BL comme probiotiques, est un marché mondial en plein essor estimée à 20 milliards d'euros et en expansion à un rythme de 10 % par an (**de Vos, 2011 ; Savadogo et Traore, 2011**).

Selon la définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), les probiotiques sont des " micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont fournis en quantités suffisantes, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte " (**Joint FAO, 2002**). Les lactobacilles par ces espèces *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. fermentum* et *Lb. helveticus*, peuvent prévenir les maladies intestinales et aider les gens à vivre plus longtemps. Ces micro-organismes ne sont pas toujours présents dans l'intestin, mais ils devraient avoir un effet positif sur l'état général et sanitaire de l'homme et des animaux, donc ils sont des supers probiotiques (**Fessard, 2017 ; Gupta et al., 2018**). *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* et *Lactococcus lactis* sont aussi des probiotiques. Ces organismes se trouvent couramment dans les aliments fermentés, cependant, les aliments fermentés ne contiennent pas toujours de probiotiques (**Fessard, 2017**).

Un microbe doit répondre aux critères suivants pour être considéré comme un probiotique ; critères de sécurité, critères technologiques, compétitivité et performances, et caractéristiques (**Thevenot, 2104 ; Alard, 2017**). Tous d'abord, les probiotiques doivent :

Introduction Générale

- * Avoir un effet bénéfique démontré sur l'hôte
- * Être non pathogène et sans effets indésirables, être totalement inoffensifs pour l'hôte afin d'être utilisés dans la santé humaine, et ils doivent avoir le statut GRAS tel que spécifié par la FDA (*Federal Drug Administration*) aux États-Unis et/ou du statut de présomption d'innocuité reconnue ou QPS (*Qualified Presumption of Safety*) défini par l'EFSA (*European Food Standard Agency*) en Europe.
- * Survivre aux acides gastriques et biliaires pour persister dans l'intestin
- * Adhérer aux cellules intestinales
- * Réduire l'adhésion des pathogènes en produisant des peptides antimicrobiens
- * Avoir un effet sur le système immunitaire
- * Survivre et rester stable suite aux procédés de production
- * Parfaitement caractérisée sur le plan phénotypique et génotypique, et ne pas porter de gènes de résistance aux antibiotiques (**Zaylaa, 2018**).

La sélection d'une souche probiotique optimale qui répond à tous les critères de sélection est difficile, voire impossible. En pratique, le choix d'un produit probiotique est toujours un compromis entre les nombreuses caractéristiques bénéfiques et les paramètres techniques de production des souches examinées d'un point de vue industriel et économique (**Thevenot, 2104**).

Les probiotiques peuvent être divisés en plusieurs catégories selon leurs effets et leurs modes d'action (**Zaylaa, 2018**). Les principales voies d'action des probiotiques sont (1) l'amélioration de la fonction de barrière intestinale, (2) l'exclusion compétitive des bactéries dangereuses, (3) l'antagonisme direct et (4) la modulation du système immunitaire (**Bermudez-Brito et al., 2012**). De ce fait, de nombreux probiotiques sont utilisés dans l'alimentation animale dans le but de réduire l'utilisation d'antibiotiques et de maintenir le bien-être des animaux, ce qui entraîne un développement sain et donc un gain de poids. *Lactobacillus* spp. sont couramment employés dans les élevages avicoles (**Angelakis et Raoult, 2010**). Plusieurs études ont également suggéré que les probiotiques pourraient jouer un rôle dans la prévention du cancer en produisant des enzymes et des antioxydants. Ceux-ci fonctionneraient en éliminant les radicaux libres, qui sont des produits chimiques qui stimulent la croissance des cellules cancéreuses (**Hammi, 2016**).

Les probiotiques peuvent également être administrés en association. En effet, (**Alard et al., 2016**) ont montré que l'association d'un *L. rhamnosus* LMG S-28148 et d'un *B. animalis*

Introduction Générale

subsp. *lactis* LMG P-28149 est capable de limiter significativement la prise de poids, de diminuer la résistance à l'insuline. Dans le même concept, fait intéressant, les fromages probiotiques contenant la souche *L. plantarum* TENSIA et 26 % de matières grasses peuvent réduire les symptômes du syndrome métabolique, la prise de poids et les risques cardiovasculaires par rapport aux fromages ordinaires (**Sharafedinov et al., 2013**). Comme ceux-ci (**Del Carmen et al., 2016**) ont démontré que l'administration d'un yaourt probiotique contenant deux souches lactiques en mélange, *S.thermophilus* CRL 807 et *Lb.bulgaricus* CRL 864 chez des souris modèles atteintes d'inflammation intestinale et de carcinogenèse du côlon, avait un effet anti-inflammatoire intense via la régulation de la réponse immunitaire.

Les BL probiotiques possèdent également des propriétés antimicrobiennes. Elles sécrètent des acides organiques tels que les acides lactique, acétique et butyrique, qui contribuent à réduire le pH intestinal et donc à limiter la croissance des bactéries entéropathogènes et uropathogènes. La souche *L. rhamnosus* GG, par exemple, stimule la génération d'acide lactique *in vitro* et inhibe la croissance de *Salmonella typhimurium*. Les bactéries probiotiques peuvent également produire du peroxyde d'hydrogène. Les souches de *L. reuteri* DSM 17938 et ATCC PTA 5289 ont une activité antifongique spécifique de la souche contre les levures du genre *Candida* via la production de peroxyde d'hydrogène (**Alard, 2017**). Les probiotiques sont capables de produire, en plus de l'acide lactique et de l' H_2O_2 , des bactériocines (**Alvarez-Sieiro et al., 2016**).

Les bactériocines sont généralement des composés protéiques contenant de 20 à 60 acides aminés. Ils ne sont pas des antibiotiques, mais elles ont des qualités antibiotiques puisqu'elles peuvent être bactéricides, c'est-à-dire éliminer des bactéries spécifiques, ou bactériostatiques, c'est-à-dire empêcher ou bloquer la croissance de certains micro-organismes (**Taale, 2016**). Klaenhammer a proposé en 1993 de catégoriser les bactériocines en quatre classes principales en fonction de leurs structures et modes d'action ; la classe I contenant des lantibiotiques, la classe II contenant des bactériocines "de type pédiocine" et la classe III contenant les bactériolysines, qui sont des protéines thermosensibles à activité enzymatique et en une quatrième classe dans laquelle où se trouvent les bactériocines complexes (**Makhloufi, 2011**). La majorité des bactériocines ne sont pas directement utilisées dans les aliments, bien que deux d'entre elles (nisine et pédiocine) soient approuvées comme conservateurs alimentaires. Fréquemment, les souches bactériennes produisant ces molécules sont utilisées directement, principalement dans les plats cuisinés pour lutter contre la présence de *Listeria monocytogenes* (**Alvarez-Sieiro et al., 2016**). A l'opposé de leur utilisation dans les produits

Introduction Générale

alimentaires, leur utilisation directe en santé humaine ou vétérinaire est envisagé (**Back, 2014**). Les bactériocines ont le potentiel d'être utilisées comme des traitements des infections cutanées, traitements de la gingivite, traitements de la mammites, traitements des otites et traitements des infections systémiques (**Taale, 2016**). Elles peuvent également être utilisées en conjonction avec d'autres antimicrobiens pour minimiser l'apparition de résistance ou pour améliorer l'efficacité antimicrobienne (**Mathur et al., 2017**).

Les souches employées dans les applications agroalimentaires doivent répondre à certains critères, notamment l'absence de facteurs de pathogénicité ou de virulence, la capacité à augmenter les caractéristiques organoleptiques de l'aliment, la facilité de culture et de conservation, et le maintien de propriétés favorables lors du stockage (**Hammi, 2016**). Toutes ces propriétés sont réunies dans les BL, en plus de la compréhension des méthodes de sécrétion et de l'activité de leur différents métabolites ce qui a permis de les utiliser non seulement comme *starters* simples, mais aussi en combinaisons sous forme des cultures mixtes ou des levains (**Hugenholtz et al., 2000**). Cependant, le succès de la combinaison dépend de la concentration des deux bactéries ainsi que des caractéristiques des souches elles-mêmes. Par exemple, pour faire un bon yaourt, le rapport des deux bactéries doit être de 1:1. La dominance de *S.thermophilus* donne un yaourt sans arôme, tandis que la dominance de *Lb.bulgaricus* donne un yaourt extrêmement acide (**RASIC et KURMAN, 1978**).

Les levains sont des cultures pures ou des combinaisons de BL choisies et utilisées pour fabriquer des aliments fermentés (**Leroy et De Vuyst, 2004**). Les ferments lactiques sont utilisés sous forme concentrée, congelée ou lyophilisée depuis les années 1980, permettant l'obtention de produits fermentés par ensemencement direct ou semi-direct, par la technique du " pied de cuve ", dans laquelle le milieu à transformer est inoculé avec une petite quantité du produit issu de la fermentation précédente, ou en faisant intervenir deux ou plusieurs cultures intermédiaires avant l'étape de fabrication (**Velly, 2014**). Les ferments lactiques peuvent être classés selon deux critères, d'après (**Hadef, 2012**), le premier étant leur composition en ferments purs, ferments mixtes et des ferments mixtes sélectionnés, et le second étant la température de croissance aux ferments mésophiles et thermophiles.

* Les **ferments purs** ; des cultures issues en théorie d'une seule cellule bactérienne et constituées d'une seule souche d'une espèce bien définie. Les **ferments mixtes** sont constitués d'un nombre et d'une proportion arbitraires de souches, qui appartiennent toutes à des types lysotypiques différents et ont de ce fait un effet fortement acidifiant, et les **ferments**

Introduction Générale

sélectionnés ; contiennent une variété de souches bien caractérisées d'une ou plusieurs espèces, avec des proportions connues et définies selon les exigences de l'utilisateur.

* Les **ferments mésophiles** ont une température de croissance optimale de 25°C à 30°C, et peuvent atteindre une température de fermentation maximale de 38°C à 40°C, selon la souche. Les espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*) et aromatisantes (*Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*) en constituent la majorité des bactéries constitutives de ce type de levain. Alors que les **ferments thermophiles** comprennent les lactobacilles, les bifidobactéries et les souches de *S.thermophilus*. Des températures de 40°C à 50°C sont optimal pour leur croissance.

L'utilisation de BL dans un groupe de " levain ou ferments mixtes" a été étudiée pour tenter d'augmenter les avantages positifs individuels des souches (**Levit et al., 2019**). Dans les systèmes alimentaires complexes, seules les cultures de départ mixtes peuvent limiter la croissance d'autres bactéries en produisant des bactériocines ou d'autres produits chimiques comme l'antibiotique de faible poids moléculaire reutéricycline, bien que seules quelques bactériocines ou substances de type inhibiteur bactériocine produite par le levain ait été identifiée jusqu'à présent (**Gobbetti et al., 2005**).

Les caractéristiques métaboliques du levain lactique offrent également des avantages nutritionnels lors de leur utilisation comme *starter* dans les industries de divers produit alimentaire (**Gobbetti et al., 2005 ; Olojede et al., 2020**). Le fromage est un de ces aliments. L'ajout des souches de BL probiotiques étudiées en co-culture a entraîné de bons bénéfices, en raison de l'augmentation du taux et de la profondeur de la protéolyse, ce qui a un impact direct sur la valeur sensorielle et nutritionnelle du fromage fabriqué (**Oliveira et al., 2012**). L'inclusion de souches de BL a augmenté la qualité organoleptique du fromage tout en inhibant les bactéries pathogènes et en décomposition (**Benheddi et Hellal, 2020**).

Devant ce constat, notre contribution répond à la nécessité d'établir une banque de données sur un des patrimoines nationale, les bactéries lactiques autochtones isolées de produits laitiers fermentés traditionnellement.

A ce titre, les objectifs de l'étude étaient les suivants :

- * L'isolement, la purification et la caractérisation des BL à partir des produits laitiers fermentés de façon artisanale collectés des zones rurale de l'Est Algérien.

Introduction Générale

- * La recherche et le criblage des propriétés biotechnologiques des isolats lactiques obtenues.
- * L'étude des potentiels probiotiques des souches lactiques isolées.
- * L'identification au niveau de l'espèce des BL sélectionnées.
- * La reconstitution de ferments mixtes mésophiles et l'étude de leurs propriétés technologiques.
- * La préparation des fromages frais type *Jben* en utilisant les ferments mixtes reconstitués et l'évaluation de leurs qualités.
- * L'étude de la conservation des fromages fabriqués par addition des huiles essentielles extraites d'une plante médicinale (*Cinnamomum cassia*).

Cette thèse s'inscrit dans le cadre des travaux originaux du laboratoire de biomolécules et applications de l'Université de Tébessa, elle a été divisée en **deux grandes parties** pour répondre à ces objectifs ;

La partie bibliographique, qui a été résumée dans cette introduction générale, comprend des informations générales sur les bactéries lactiques, leur taxonomie, leur écologie et leur importance dans le secteur industriel.

La partie expérimentale, couvre toutes les méthodologies de cette étude ainsi que les résultats et la discussion, les aspects les plus intrigant de cette enquête scientifique, a été divisé à son tour en ;

- * **Isolement et caractérisation des bactéries lactiques** ; la tâche à accomplir est de traiter le premier objectif.
- * **Caractérisation biotechnologique des bactéries lactiques isolées** ; cette tâche nous orientera vers l'étude des aptitudes technologiques des souches lactiques.
- * **Potentiel Probiotiques des bactéries lactiques isolées** ; cette section examinera les propriétés probiotiques des souches lactiques.
- * **Identification des bactéries lactiques sélectionnées**
- * **Préparation d'un fromage frais à base de ferments mixtes et évaluation de sa qualité**

Les derniers éléments de la thèse avec les références bibliographiques des différents thèmes abordés dans cette recherche, et les Annexes qui ont été consacrées à la diffusion des résultats détaillés de certaines expérimentations et la présentation des participations

Introduction Générale

scientifiques nationales et internationales, ainsi que la publication internationale de la soutenance ; ont été la conclusion générale et la présentation des principales perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique de recherche.

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et Méthodes

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de recherche de Molécules Bioactives et Applications de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'Université de Larbi Tebessi –Tébessa-, durant la période de Janvier 2019 au Décembre 2021 et au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico – chimique (CRAPC) Bou-Ismaïl-Tipaza du 15 au 31 Décembre 2020 et au laboratoire de contrôle de qualité "Eurl laboratoire Fethallah"-Tébessa pendant le mois de Février 2021. Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- * Isolement et identification des bactéries lactiques à partir de produits laitiers artisanaux;
- * Etude des propriétés technologiques et probiotiques de ces bactéries lactiques ;
- * Constitution de ferments mixtes mésophiles et étude de leurs propriétés technologiques ;
- * Application des ferments mixtes sélectionnés dans la fabrication d'un fromage frais de type *Jben* au sein du laboratoire.

Les procédures mises en œuvre pour atteindre ces objectifs sont résumées dans la **Figure n°01** et décrites en détail dans les cinq fiches techniques répertoriées ci-dessous :

Fiche technique n° 01 : Prise des échantillons, isolement et condition de croissance

1. Présentation des échantillons

Dans plusieurs pays du monde, une large gamme des produits laitiers fermentés est commercialisée. Le *Leben* et le *Raib* sont les laits fermentés le plus largement consommés en Algérie, il existe environ douze sortes de fromages traditionnels fabriqués dans différentes régions de Nord Algérien " y compris frais et sèche comme *Jben*, *Klila Bouhezza*, *Mechouna*, *Takammart*, *Klila sèche* et *Oudiouan Oulli*. A cette gamme de produits s'ajoute les beurres traditionnels de vache ou de chèvre qui sont utilisés depuis longtemps comme matière grasse comestible dans les zones rurales (**Idoui et al., 2013 ; Essma, 2019 ; Chait et al., 2021**). Les **Figure n° 02 et n°3** illustrent les procédures traditionnelles typiques pour la fabrication du *Jben*, *Klila*, *Bouhezza*, *Zebda* et du *Dhan Algérien*.

1.1.Jben

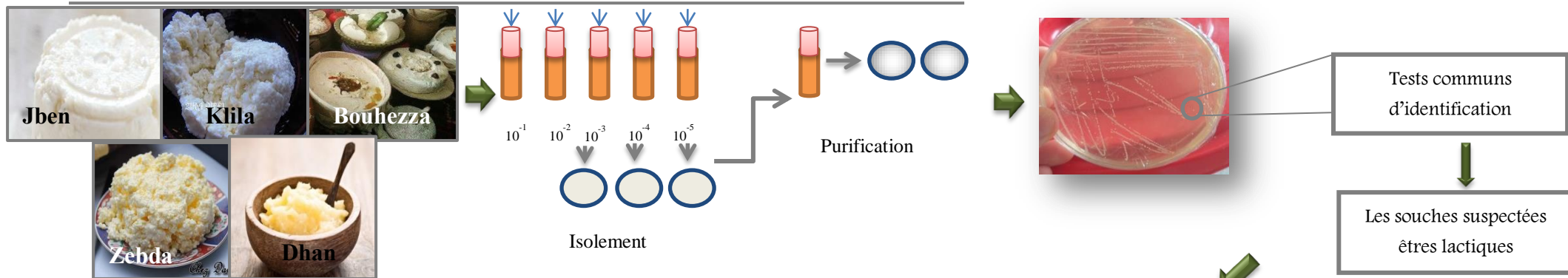
Le *Jben* un fromage à pâte molle fabriqué à partir de lait de vache, de chèvre et de brebis dans la zone montagneuse de l'Est Algérien (*Souk Ahras*, *Guelma*, *Tébessa*, *Khenchela* et

Matériel et Méthodes

Batna). Le jben présente un environnement riche et complexe avec un microbiote autochtone varié, la flore lactique dominante de ce produit appartient aux genres *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp., et *Streptococcus* spp., qui contribuent à la bioconservation et le développement des propriétés organoleptiques du produit final (Mechai et al., 2014).

Dans la procédure traditionnelle de la fabrication du Jben, le lait cru est collecté dans un récipient en terre cuite. Le lait est tout d'abord filtré afin d'éliminer les impuretés grossières qu'il peut contenir, et subit une acidification spontanée avec addition de présure bovine ou végétale. Dans le dernier cas, la coagulation est réalisée par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus* L), d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut (*Cynara scolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*). Les fleurs entières sont mises à macérer dans le lait. Le végétal est utilisé pour accélérer la coagulation et pour donner un certain goût au fromage. La variété végétale utilisée varie d'une région à l'autre; elle donne un goût et une texture appréciés par les gens de la région concernée. Le caillé est ensuite égoutté et salé ou non (dans un sac de mousseline pendant des jours jusqu'à l'obtention de la consistance désirée du produit final. Une fois l'égouttage terminé, le fromage est ensuite vidé du sac en tissu, coupé en morceaux (environ 250 g). Dans certaines régions d'Algérie, des plantes aromatiques (Ail, persil ou poivre) sont ajoutées pour améliorer la saveur du produit final (Figure n° 02).

Matériel et Méthodes



Échantillons

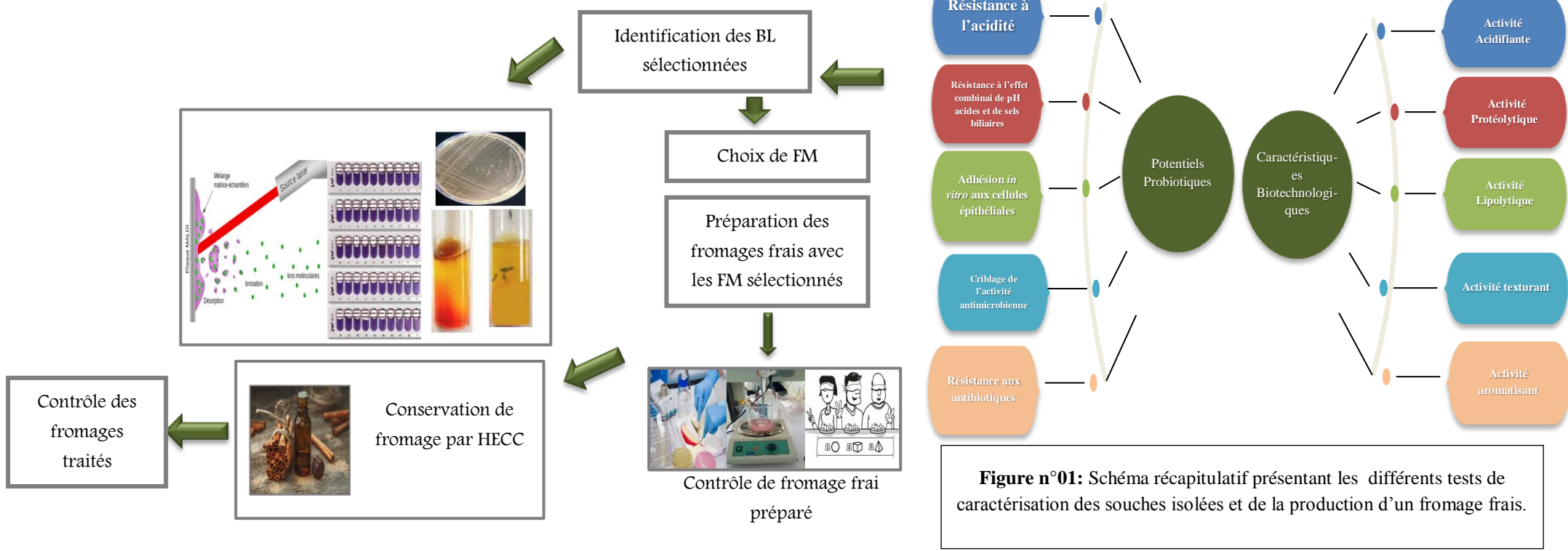


Figure n°01: Schéma récapitulatif présentant les différents tests de caractérisation des souches isolées et de la production d'un fromage frais.

1.2. Klila

Le Klila un produit laitier fermenté Algérien a longtemps été l'un des moyens de conservation du lait, son fabrication est empiriquement réalisée à partir de "Lben" (**Leksir et al., 2019**). Les caractéristiques microbiologiques de fromages Klila pourraient changer d'une région à une autre, cependant la flore microbienne du Klila rest toujours dominée par les entérocoques impliqués dans le processus de fabrication et maturation de ce fromage (**Guétouache et Guessas, 2015 ; Benamara et al., 2016**).

Dans les zones rurales la préparation traditionnel de klila début le printemps où le lait est abondant. Le lit cru collecté est laissé à lui-même jusqu'à acidification spontanée à température ambiante durant une période de 24 h à 72h. Ce lait se transformé rapidement en "Raib" après une coagulation spontanée, le "Raib" est transversé dans la "chekoua". Cette dernière représente le récipient original de barattage depuis des milliers d'années. Elle est issue d'un traitement laborieux de la peau de chèvre ou de brebis. Ensuite, le "Raib" est baratté (40 mn jusqu'à 1h et 15mn) en ajoutant des petites quantités d'eau tièdes ou froides, permettant ainsi de recueillir la matière grasse sous forme de beurre dit "Zebda". Après séparation de la matière grasse, le L'ben est chauffé modérément à (55C°- 75C°) jusqu'à la séparation du lactosérum. Le lactosérum formé est séparé du caillé par un tissu fin et le caillé obtenu est le "Klila", ensuit égoutté spontanément est consommé comme un fromage frais ; sinon, il est découpé puis séché (pendant quelques jours selon la saison), est ensuite utilisé après réhydratation comme un ingrédient dans des préparations culinaires. Sous sa forme déshydratée, il peut être conservé plusieurs années à températures ambiante, dans des jarres en poterie ou en verre ou des sacs en peau de chèvre/mouton (**Leksir et Chemmam, 2015 ; Benlahcen et al., 2017**).

1.3. Bouhezza

Bouhezza est un fromage affiné à pâte molle, traditionnel largement fabriqué et comsomé dans la région du "Chaouia" de l'Est Algérien. En effet, à l'origine, le *Bouhezza* était traditionnellement le produit de la transformation du lait de chèvre et de brebis; toutefois la tendance actuelle semble s'orienter vers l'utilisation du lait de vache (**Aissaoui et al., 2006**).

Le fromage est obtenu après transformation du *Lben* dans une outre faite de peau de chèvre ‘ *la Chekoua* ‘. Le *Lben* est utilisé comme matière première dans la fabrication après le barattage de Raib et l'élimination de beurre (**Hamama, 2017**).

Comme tous les fromages affinés la flore microbienne de *Bouhezza* est constituée principalement par les BL, les bactéries probioniques, les levures et moisissures ainsi que les bactéries contaminant la surface (**Zitoun et al., 2011 ; Saoudi, 2012**). L'égouttage, le salage et l'affinage du *Bouhezza* sont réalisés simultanément dans la *Chekoua* pendant une durée de 2 à 3 mois. Au cours de la période d'affinage, du *L'ben* et du lait sont rajoutés au contenu de la *Chekoua*. Au stade de la consommation, le fromage est épicé soit par l'incorporation de la poudre de piment rouge piquant, de la H'rissa, le poivron noir ou par le vinaigre (**Zitoun et al., 2011 ; Medjoudj et al., 2017**).

1.4. Beurre traditionnel "Zebda" et "Dhan"

Selon la norme du Codex Alimentaire, le beurre est un " produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait" . Un beurre traditionnel frais le "Zebda" est fabriqué avec une matière primaire non pasteurisé soit du lait frais, du lait entier fermenté (Le *Lben*) ou de la crème, le beurre fermenté traditionnel ; "Dhan" est fabriqué à partir de lait cru entier (**Bettache et al., 2012 ; Boussekine et al., 2020 ; Mourad et Bettache, 2020**). Le beurre traditionnel Algérien se caractérise par une flore microbienne abondante due à l'absence des traitement thermique au cours de la fabrication (**Idoui et al., 2010**).

La fabrication de beurre traditionnel par les méthodes artisanales est loin d'être parfaitement connue. Pour l'éleveur, l'utilisation de *Lben* comme matière primaire de production présente divers avantages surtout l'acidité qui empêche la contamination microbienne. L'étape clé de la production traditionnelle de beurre est l'agitation manuelle par le "Chekoua" en ajoutant une petite quantité d'eau qui facilite la collection des granules grasses "le Zebda" après la précipitation des lipides libérés. La transformation du Zebda en Dhan conduit à un produit plus équilibré chimiquement et microbiologiquement capable d'être conservé plus d'une année (**Kacem et Karam, 2006 ; Iradukunda et al., 2018 ; Mourad et Bettache, 2020**).

Matériel et Méthodes

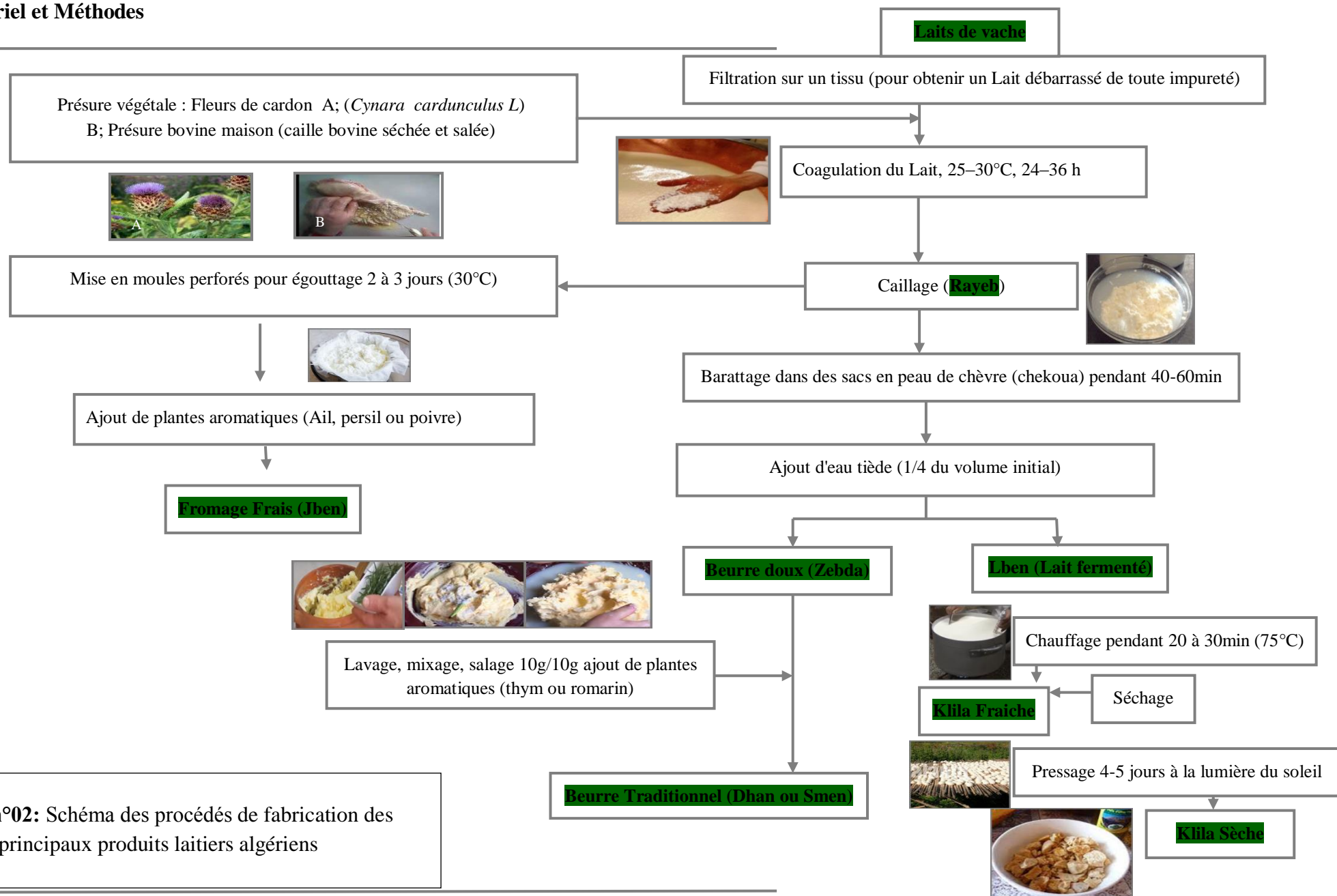


Figure n°02: Schéma des procédés de fabrication des principaux produits laitiers algériens

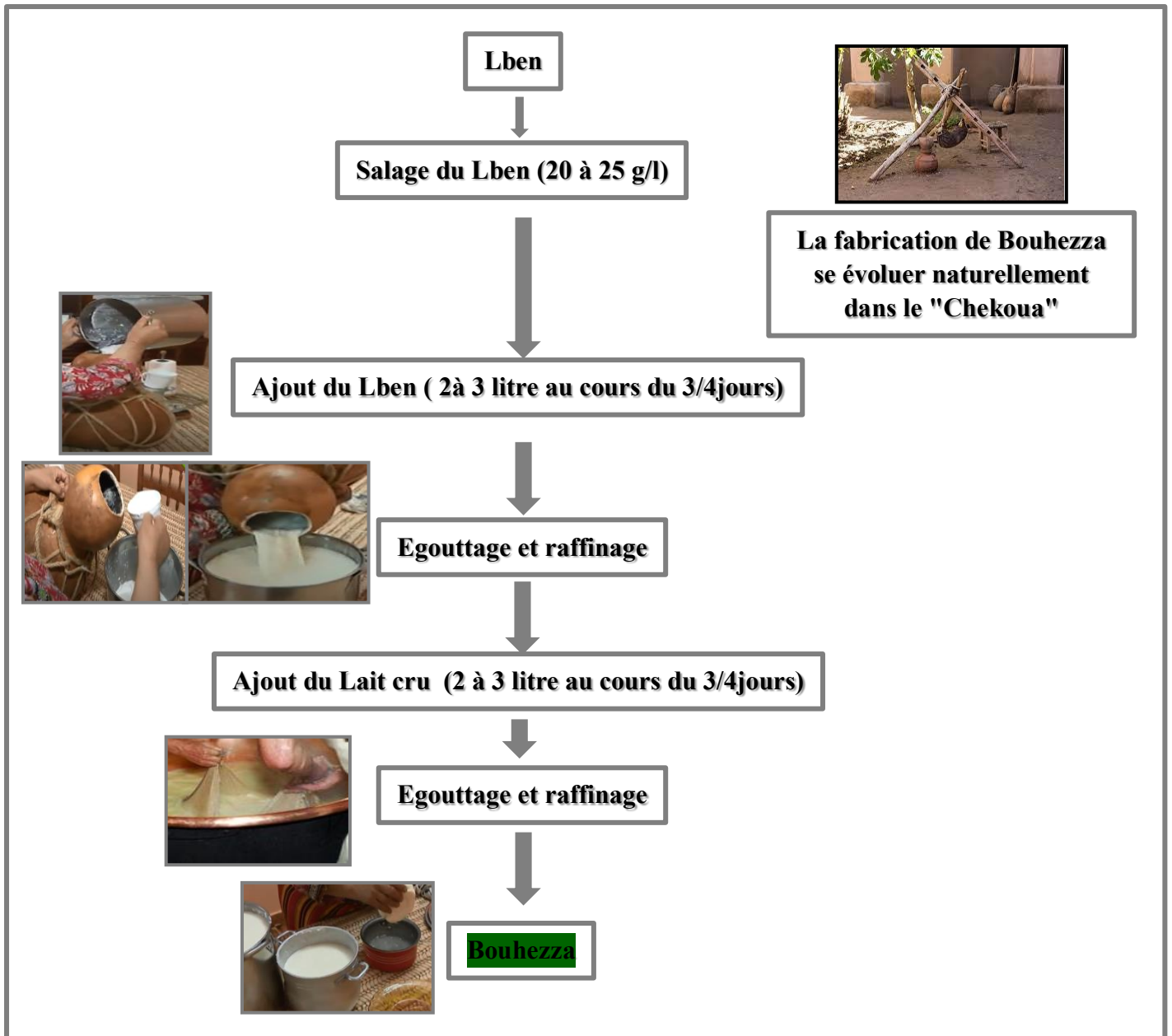


Figure n°03: Diagramme de fabrication de "Bouhezza"

2. Isolement et purification des souches lactiques

Les lactocoques et les streptocoques lactiques ont été isolées sur le milieu M17 (**Terzaghi et al., 1975**), cependant le milieu MRS (**De Man et al., 1960**) a été utilisé pour l'isolement du genre *Lactobacillus* et genres apparentés.

Les (87) échantillons de produits laitiers artisanalement fermentés sont présentés dans le **Tableau n° 01**. Ils ont été récoltés à partir de différentes zones rurales de Tébessa, Souk Ahras et Oum El Bouaghi dans de minuscules boîtes stériles et sont transférés directement au laboratoire sous réfrigération à 4°C à condition qu'ils soient traités dans un délai ne dépasse pas les 12 heures.

Tableau n° 01 : La répartition des échantillons

Produits laitiers fermentés artisanal	Nombre des échantillons
Jben	47
Klila	20
Bouhezza	7
Zebda	7
Dhan	6

2.1. Milieux et conditions de cultures

Afin d'isoler les bactéries lactiques, différents milieux de cultures sélectifs ont été utilisés afin de proliférer les germes désirés (**Annexes**) :

- * Le milieu MRS (Man, Rogosa et Sharpe) avec un pH=6.4 + 0.2 ayant été utilisé pour l'isolement des Lactobacilles (**De man et al., 1960**).
- * Le milieu M17 avec un pH = 6.9 + 0.2 ayant été utilisé pour l'isolement des Lactocoques (**Terzaghi et Sandine, 1975**).

2.2. Isolement

En vue d'obtenir des colonies lactiques convenablement séparées, la méthode classique d'isolement a été utilisée ; 10g de chaque échantillon a été additionné à 90 ml d'eau physiologique (NaCl à raison de 0.9%), une série de dilutions décimales a été préparé (10^{-1} à 10^{-9}) et homogénéisé. Après un ensemencement à la surface en duplicate dans les milieux de culture solide MRS et M17, les souches présumptives ont été récupérées. Les

Matériel et Méthodes

boîtes de Pétri sont incubées à 30°C pendant 48h en aérobiose (pour les Lactocoques) et anaérobiose (pour les Lactobacilles) (Mami, 2013).

2.3.Purification

Après récupération des colonies blanchâtres et crémeuses (suspecte d'être lactique) une série de repiquages successifs a été réalisée. La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec une incubation à 37°C pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches.

Les souches sélectionnées -Gram positives et catalases négatives- ont été identifiées au niveau du genre par les tests communs ; Ils portent essentiellement sur la détermination du type fermentaire, croissance dans les différentes conditions de pH et de salinité et croissance à différentes températures.

2.3.1.Détermination de type fermentaire

Ce test permet d'étudier le caractère homo ou hétéro fermentaire des souches lactiques par la mise en évidence de la production de CO₂ à partir de glucose. Pour le réaliser, un milieu liquide enrichi avec 5g/l de glucose distribué dans des tubes contenant des cloches de Durham. Après inoculation par une culture lactique jeune et incubation de 24h à 30C°, les isolats qui ont produit du gaz dans les cloches sont notés hétérofermentaires *stricts*. Tandis que les isolats qui n'ont pas produit de gaz dans les cloches sont notés homofermentaires (Carbonnelle et al., 1990 ; Leveau et al., 1991) .

2.3.2. Croissance dans les différentes conditions de pH et de salinité

La croissance des BL sélectionnées aux pH 9,6 et 4,4 a été étudiée dans le milieu MRS liquide réparti à raison de 5 ml dans les tubes à essai et ajusté au pH convenable (Schleifer et Kilpper-Bälz, 1984). Pour tester la capacité des isolats lactiques à croître sur des milieux salés, le bouillon MRS additionné avec 6.5, 10 et 18% du NaCl a été employé (Schillinger et Lücke, 1987). La croissance bactérienne qui se traduit par l'apparition d'un trouble est estimée après 24 et 48 h d'incubation à 30C°.

2.3.3. Croissance à différentes températures

Pour réaliser ce test, les bouillons MRS et M17 ont été inoculé avec les souches lactiques. Les températures et les périodes d'incubation sont ajustés comme suivants : -10°C pendant 7 à

10 jours - 15°C pendant 7 à 10 jours- 30°C pendant 24 à 48 h - 37°C pendant 24 à 48 h - 40°C pendant 24 à 48 h et 45°C pendant 24 à 48 h (**Mechai, 2009**).

3. Conservation

3.1. Conservation à court terme

Cette opération est nécessaire pour le maintien de la viabilité des souches isolées. Les isolats purifiés ont étéensemencé sur gélose inclinée (MRS, M17 et MRSc), incubé pendant 18 h à 30°C (Lactocoques) et 37°C (Lactobacilles et Bifidobactéries) et conservé à 4C°. Le renouvellement des cultures se fait toutes les quatre semaines (**Mechai, 2009**).

3.2. Conservation à long terme

A partir des cultures jeunes de 18h, préalablement purifiées sur milieu liquide, 1 ml de la suspension bactérienne est inoculé dans le milieu de conservation contient 2 ml de lait écrémé, 0.2% d'extrait de levure et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dans des micro tubes à -20°C (**Zergoug, 2017**).

Fiche technique n° 02 : Etude des aptitudes technologiques des bactéries lactiques

1. Activité acidifiante

Pour l'étude de l'activité acidifiante, un lait écrémé (10%) a été préparé dans des erlenmeyers de 100 mL, après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque erlenmeyer estensemencée par une culture revivifiée (10^9 UFC/mL) à raison de 1% (v/v), l'incubation est réalisée à 37°C. A des intervalles de 2h, 4h, 6h, 24h et 48h, 10 ml de la culture est prélevé et le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre et l'acidité titrable a été déterminée selon la norme 306 de la Fédération Internationale de Laiterie (FIL "IDF") (IDF, 1995) (Figure n°04). L'acidité est déterminée par la formule :

$$\text{Acidité (D}^\circ\text{)} = V (\text{NaOH}) \times 10.$$

2. Activité protéolytique

L'activité protéolytique extracellulaire a été testée comme décrit par Dal Bello *et al.*, (2012) avec une légère modification. La gélose MRS (2% (p/v)) additionnée de lait écrémé à 10% a été coulée, solidifiée et séchée puis des disques de papier Wattman stérile ont été déposés en surface de la gélose. Chaque disque a reçu un volume de 20µl d'une culture jeune. Après une incubation à 37° C pendant 4 jours, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des disques.

3. Activité lipolytique

L'activité lipolytique, des BL a été étudiée selon le protocole développé par Guiraud *et Galzy* (1980) sur le milieu MRS tamponné à pH 7 (tampon phosphate $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, 0,1M). la gélose MRS opacifié avec 0,5% de carbonate de calcium (CaCO_3) additionnée avec un substrat lipidique naturelle (huile d'olive) à différente concentration 1, 3 et 5%, comme une source unique de lipides a été préparé. Des précultures de 18h des souches correspondantes ont été ensemencées et les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 4 jours et examinées quotidiennement pour la formation d'un halo autour des colonies. La lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entourée d'un dépôt autour des disques.

Dans le même concept, la gélose MRS supplémenté avec 0,5% de NaCl , 0,01% de CaCl_2 et un substrat lipidique artificiel (tween 80) à des concentrations 1, 3 et 5% a également été utilisé pour étudier cette activité. Après incubation à 30° C pendant 72h l'activité lipolytique est déterminée par l'apparition d'une zone de précipitation formée autour des colonies.

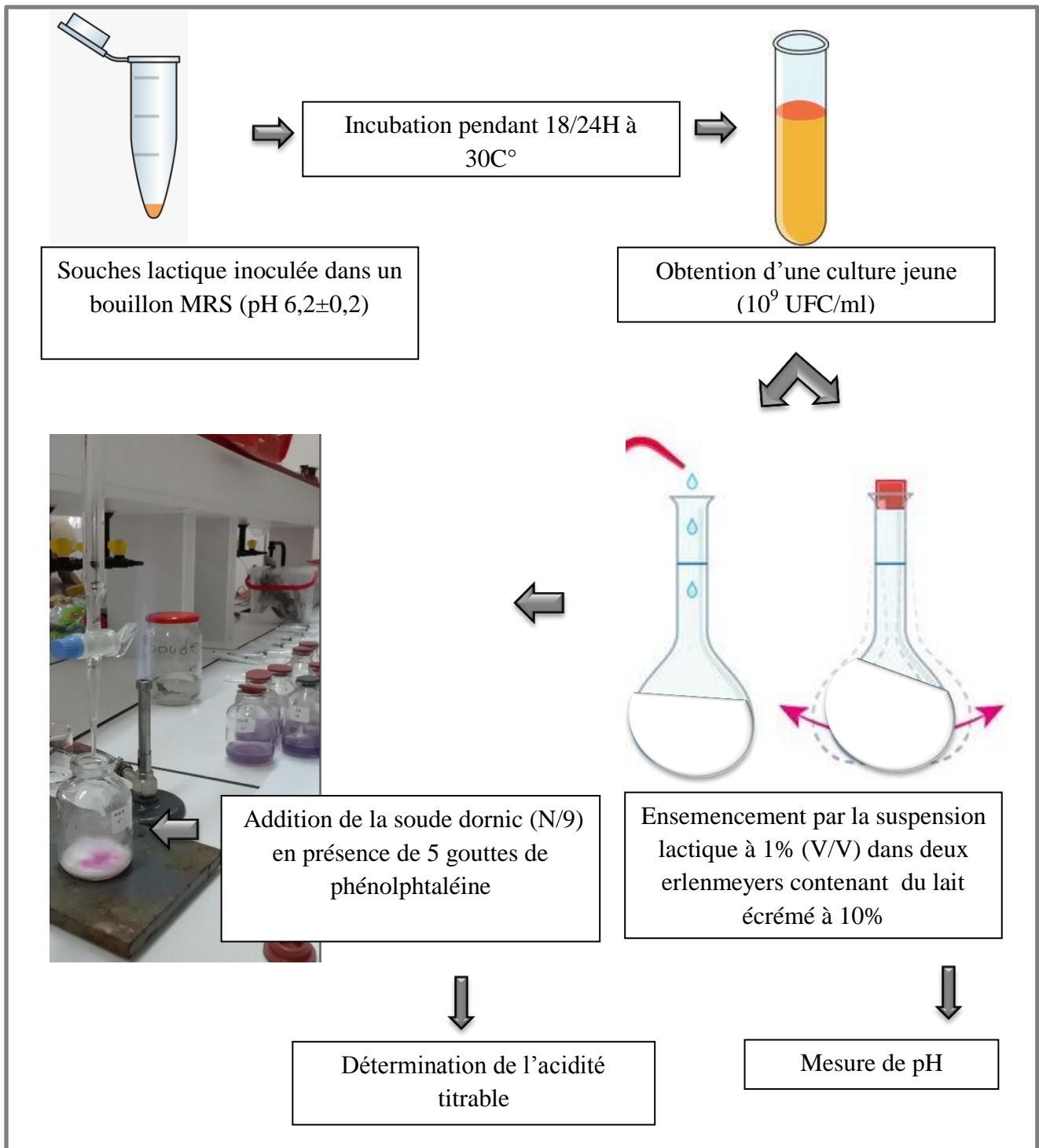


Figure n°04: Détermination du pouvoir acidifiant

4. Activité texturant

L'activité texturant qui consiste à révéler la production d'exopolysaccharide (EPS) a été détecté sur un milieu solide hypersaccharosé. Le test a été réalisé selon la méthode d'**Abdallah et al., (2019)**, dans des boîtes de pétri préalablement coulées avec la gélose hypersaccharosé (composition dans l'annexe n°01), 0,3 ml des cultures d'une nuit des souches à tester ont été striées à la surface. Les boîtes ont été incubées pendant 48h à 30°C. Les isolats producteurs d'EPS ont se manifestent par la formation des colonies visqueuses, "mucoïdes". Ces dernières apparaissent sous forme des colonies brillantes et lisses.

5. Activité aromatisant

L'activité aromatisant a été révélée selon le protocole proposé par **Colombo et al., (2019)**. Dans 10 ml de lait écrémé reconstitué (BD, 10 % w/v) des aliquotes des cultures de BL sélectionnées (1 %, v/v) ont été inoculées et incubées à 37°C pendant 24 h. Ensuite, 1 ml de culture cellulaire a été ajouté à 0,5 ml de α -naftol (1% p/v) et KOH (16% p/v) et incubé à 30°C pendant 10 min. La production de diacétyle se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge au sommet des tubes. Les résultats ont été exprimés ; négatifs (-), faibles (+), moyens (++) ou forts (+++) selon l'intensité de la couleur.

Fiche technique n° 03 : Potentiels probiotiques des bactéries lactiques isolées

1. Résistance à l'acidité

La résistance des BL à l'acidité a été étudiée selon le protocole décrit par **Gharbi et al., (2019)**. Les cultures lactiques sont cultivées sur bouillon MRS jusqu'à une densité optique (DO650) de 0,6 à 0,7. Les cultures ont été centrifugées (12 000 rpm, 5 min à 4 °C), lavées, puis remises en suspension dans 5 ml de tampon phosphate salin (PBS) ajusté à pH (1,0, 2,0 et 3,0) en utilisant 1 mol/l de HCl. Des dénombrements sur gélose MRS sont réalisés après 0, 2 et 3h d'incubation à 30°C. Le pourcentage de survie des cellules a été calculé à l'aide de la formule indiquée ci-dessous :

$$\text{Taux de survie (\%)} = (\log \text{UFC N1} / \log \text{UFC N0}) \times 100.$$

N1 est le nombre viable d'isolats après incubation et N0 est le nombre viable initial.

2. Résistance à l'effet combiné de pH acides et de sels biliaries

La résistance à l'acidité combinée aux sels biliaries a été étudiée selon le protocole développé par **Tambekar et Bhutada (2010)**. Les souches lactiques sont mises en culture sur bouillon MRS. Après incubation, les cultures bactériennes en phase exponentielle sont centrifugées (12000 rpm/5 min). Les cellules récupérées dans le culot sont ensuite transférées dans un bouillon MRS (10 ml) contenant des sels biliaries (0,3 %, p/v) (Sigma-Aldrich, États-Unis) dont le pH est préalablement ajustées à 2 et 2.5 avec de l'acide chlorhydrique (4 M). Un bouillon MRS ajusté à pH 6,5 a été utilisé comme témoin.

Après des périodes d'incubation de 0, 2 et 4h, le nombre des cellules viables a été calculé et le pourcentage de survie des isolats a été déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux de survie (\%)} = (\log \text{UFC N1} / \log \text{UFC N0}) \times 100.$$

N1 est le nombre d'isolats viables après incubation et N0 est le nombre initial d'isolats viables.

3. Adhésion *in vitro* aux cellules épithéliales

Le test d'adhésion des BL aux cellules épithéliales prises à partir de différentes parties de l'intestin de poulet a été réalisé comme décrit par **Ehrmann et al., (2002)**. Des segments de duodénum et d'iléon collectés ont été préparés : d'abord lavés avec une solution saline stérile tamponnée au phosphate (PBS, pH 7,2), puis laissés reposer pendant 30 mn à 4°C°. Un deuxième lavage a été effectué dans le même tampon suivi d'une période de repos de 3 h à 4°C. Les cellules épithéliales ont été grattées doucement avec le bord d'une lame de microscope. La concentration des cellules raclées a été ajustée à 5×10^4 cellules/ml. D'autre

part, la concentration en cellules bactériennes a été ajustée à 10^8 cellules/ml après une centrifugation à 6000 rpm/10mn des cultures jeunes.

100 µl de chaque suspension bactérienne ont été ajoutée à 400 µl de la suspension de cellules épithéliales puis incubée pendant 30 min à 37°C. L'adhésion est observée au microscope et notée positive si au moins 10 bactéries par cellule épithéliale pouvaient être observées.

4. Criblage de l'activité antimicrobienne

La production massive d'acide lactique et d'acide acétique donne un effet antimicrobien intéressant aux BL, certaines souches sont également connues pour produire des bactériocines et des molécules de type bactériocine (**L De Vuyst et EJ Vandamme, 1994**). Les souches lactiques isolées sont testées pour leur activité antagoniste vis-à-vis des bactéries et des champignons pathogènes et d'altération (**Tableau n°02**) :

4.1. Préparation de surnageant

Les BL ont été cultivées dans un bouillon (MRS) à 37°C pendant 18h. Les culots ont été récupérés par centrifugation (7000g pendant 20min à 4°C) et dialysé contre 0,01 mol/l de tampon phosphate de potassium (pH 6.6). Après dialyse, chacune des solutions a été stérilisée par filtration à travers un filtre à pores de 0,45 µm (Millipore). La solution ainsi obtenue est désignée comme le surnageant natif (SN) (**Mechai et al., 2020**).

4.2. Activité antibactérienne

Les souches probiotiques ont été criblées pour leur activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion en puits légèrement modifiée (**Schillinger et Lücke, 1989**). L'activité antagoniste des surnageant a été évalué contre des bactéries pathogènes et opportunistes Gram⁺ et Gram⁻ multirésistantes aux antibiotiques et productrices de β-lactamases (**Tableau n°02**). Chaque souche d'essai a été cultivée pendant une nuit dans du Tryptic Soy Broth (TSB, TM Media, Delhi, India). Après une incubation, elles ont été ensemencées sur une gélose Mueller Hinton (MH, Condalab). Des puits adjacents (6 mm) ont été réalisés dans de la gélose molle (0,8%) ensemencée préalablement avec les souches indicatrices, et 20µL de surnageant ont été versés dans les puits. Les zones d'inhibition ont été mesurées après 24 h d'incubation à 37°C.

4.3. Activité antifongique

Les SN des BL ont été testées pour leur activité antifongique contre sept espèces différentes : *Candida albican* (2 souches), *Alternaria Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus* (2 souches), *Neosartorya pseudofischeri* et

Matériel et Méthodes

Penicillium expansum. Ces moisissures étaient auparavant isolées des produits alimentaires, les souches de *Candida albicans* ont été aimablement fournies par le laboratoire central de l'hôpital Bekaria (Tebessa, Algérie) (**Tableau n°02**).

L'activité antifongique a été déterminée par la méthode de double couche décrite par **Muthusamy et al., (2020)**. Le SN de chaque isolat lactique a été inoculé sous forme de spot central dans le milieu gélosé MRS, par la suite les cultures ont été recouvertes de 10 ml de milieu Sabaroud semi-solide (TM Media, Delhi, India) préalablement inoculé avec les suspensions de spores des champignons cibles. La préparation de spores de champignon a été réalisée selon (**Kim, 2005**) ; les champignons filamenteux ont été ensemencés à la surface de milieu Sabouraud à 30°C pendant 10 jours et les spores ont été récupérées dans de l'eau distillée stérile contenant 0,05 % de Tween 80 et agitées pendant 15 minutes.

Pour le test de l'antagonisme contre les deux souches de *Candida albicans* Ca01 et Ca02 ; la méthode des puits décrit par (**Schillinger et Lücke, 1989**) a été utilisée. Le résultat de test de l'activité antagoniste se traduit par l'apparition des zones d'inhibition après une incubation à 30°C pendant 7 jours pour les champignons et 24-48h pour les levures.

5. Résistance aux antibiotiques (ATB)

La résistance aux antibiotiques des BL a été réalisée selon la méthode de l'antibiogramme illustrée par (**Leroy et al., 2006**). Après ensemencement de la gélose MH avec 10^6 ufc/ml des cultures lactiques correspondantes, des disques d'antibiotiques contenant de l'érythromycine (15 µg), de la tétracycline (30 µg), de la ciprofloxacine (5 µg), de l'ampicilline (10 µg), de la gentamicine (10 µg) et de l'amoxicilline acide clavulanique (30 µg) sont déposés sur la surface de la gélose.

Les résultats de la résistance ou la sensibilité sont estimés par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition puis comparés aux valeurs des seuils interprétatifs de sensibilité selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010).

Tableau n°02 : Les souches indicatrices et leurs origines

Microorganismes indicateurs	Origine	Code de la souche	Phénotypes de résistance détectés
Les Souches de Référence			
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	25923	/
<i>Escherichia coli</i>	ATCC	25922	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	27853	/
Les Bactéries à Gram positive			
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humain	03MRSA	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humain	25MRSA	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humain	27MRSA	/
<i>Listeria monocytogenes</i>	Alimentaire	Lm01	/
Les Bactéries à Gram négative			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Humain	Ab57	/
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Humain	Ab37	/
<i>Enterobacter cloacae</i>	Humain	En73	bêta-lactamase à spectre étendu
<i>Enterobacter cloacae</i>	Humain	En53	/
<i>Enterobacter cloacae</i>	Humain	E22	bêta-lactamase à spectre étendu Céphalosporinase de haut niveau (AmpC)
<i>Escherichia coli</i>	Humain	E03	bêta-lactamase à spectre étendu
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Humain	E02	bêta-lactamase à spectre étendu
<i>Salmonella Typhi</i>	Humain	St14	bêta-lactamase à spectre étendu
<i>Serratia odorifera</i>	Humain	So64	/
<i>Serratia marcescens</i>	Humain	Sm27	bêta-lactamase à spectre étendu
<i>Serratia marcescens</i>	Humain	E18	/
Les Champignons			
<i>Candida albicans</i>	Humain	Ca01	/
<i>Candida albicans</i>	Humain	Ca02	/
<i>Alternaria Alternaria</i>	Alimentaire	Aa7 3'	/
<i>Aspergillus flavus</i>	Alimentaire	Af8	/
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Alimentaire	Af9'	/
<i>Aspergillus terreus</i>	Alimentaire	At5'	/
<i>Aspergillus terreus</i>	Alimentaire	At1'	/
<i>Neosartorya pseudofischeri</i>	Alimentaire	Np7'	/
<i>Penicillium expansum</i>	Alimentaire	Pe14'	/

ATCC: American Type Culture Collection

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Fiche technique n° 04 : Identification des bactéries lactiques sélectionnées

Les isolats lactiques qui ont démontré des propriétés biotechnologiques et probiotiques intéressantes ont été sélectionnés pour être identifiés au niveau de l'espèce par les tests spécifiques.

1. Identification biochimique par la galerie API 50CHL

Les galeries API 50 CHL (Biomérieux, REF 50 300, France) permettent une identification des bactéries lactiques au niveau de l'espèce et même parfois de la sous-espèce sur la base de la fermentation de 49 sucres différents. La galerie API 50 CHL est constituée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques).

Préparation des galeries :

- * Chaque galerie est constituée de 5 bandes comprenant chacune 10 tubes numérotés. Préparer une boîte d'incubation (fond et couvercle)
- * Répartir environ 10 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- * Sortir les bandes de leur emballage, séparer en deux les bandes 0-19 et 20-39 et les déposer dans le fond de la boîte d'incubation.
- * Compléter la galerie avec la bande 40- 49

Préparation de l'inoculum :

- * Cultiver les bactéries sur un milieu adapté à sa croissance
- * Après 24 h d'incubation, la culture est récupérée par centrifugation à 3100 tr/mn pendant 10 mn, le culot est rincé 2 fois à l'eau physiologique stérile. Préparer l'inoculum dans le milieu de l'API50 CHL.

Inoculation des galeries :

- * Répartir la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette stérile dans les 50 tubes de la galerie en se conformant aux précautions suivantes :
- * Incliner légèrement vers l'avant la boîte d'incubation.
- * Eviter la formation de bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule. Lorsque les tubes doivent être inoculés, les cupules sont remplies avec de l'huile de paraffine stérile.
- * Incuber les galeries à la température optimum de croissance de bactéries étudiées.

- * Durant la période d'incubation, la fermentation des sucres est indiquée par une couleur jaune exceptée pour l'esculine (brun foncé). Les résultats sont lus à 24 h et vérifiés après 48 h d'incubation.
- * Les interprétations des profils de fermentation ont été facilitées par la comparaison avec des profils biochimiques de références disponibles sur la base de données APIweb® (bioMérieux).

2. Identification protéomique des souches Maldi-TOF-MS

Dans le but de confirmer les résultats de l'identification phénotypique et biochimique des isolats lactiques, une identification par *Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry* (Maldi-Tof-MS) a été employée. Cette technique est un outil prometteur et fiable d'identification bactérienne qui se base sur l'analyse de protéines de cellules entières et permet une identification des microorganismes au niveau de genre, de l'espèce et parfois même au rang de sous-espèce. Le protocole adopté est celui décrit par **Bellili (2020)**.

Les souches de bactéries lactiques phénotypiquement identifiées ont été cultivées sur MRS solide pendant 24 heures. Un microlitre de la culture bactérienne a été co-cristallisée dans 100µl composée de 50% d'acétonitrile (ACN) (Merck, Darmstadt, Germany) et 1% d'acide trifluoroacétique aqueux (TFA) (Acros Organics, Morris Plains, NJ), le mélange a été vortexé soigneusement deux fois pour avoir une bonne homogénéisation. Après centrifugation à 8000 rpm pendant 10 min, le surnageant a été transféré dans de nouveau eppendorf et a été stocké à – 20°C. Un microlitre d'aliquote de l'échantillon a été mélangé avec 10µl d'une solution composée de 10mg d'acide α -cyano-4-hydroxycinnamic (α -CHCA) dans 1mL de 50% ACN et 2.5% TFA aqueux. Après séchage, un microlitre a été déposée sur la plaque. L'échantillon a été ionisé puis accélérée avec une tension de 20000v. Les mesures des spectres ont été réalisées en mode linéaire avec une détection des ions en mode positif et un temps de latence de 350 ns sous 100 acquisitions à partir de même spot d'échantillon dans une gamme de 1500–15000Da.

Fiche technique n° 05 : Préparation d'un fromage frais à base de ferments mixtes et évaluation de sa qualité

1. Choix des ferments mixtes

1.1. Etude des interactions entre les souches de ferments reconstitués

L'étude des interactions entre les bactéries lactiques est le facteur déterminant dans le choix des ferments mixtes utilisés dans la préparation d'un produit fermenté. Ces interactions sont classées dans deux catégories : les interactions positives qui se caractérisent par les effets synergétiques entre les micro-organismes et les interactions négatives qui correspondent à une à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Choisy et al., 1997). L'activité antagoniste entre les souches lactiques a été recherchée selon le protocole proposé par Schillinger et Lücke, (1989) comme décrit dans la fiche techniques n° 03.

L'interaction négative ou la symbiose entre souches est révélée par l'absence des zones d'inhibition par contre l'antagonisme se traduit par la présence de ces dernières après une incubation à 37°C pendant 24h. Les souches ayant une symbiose entre elles ont été choisies pour la reconstitution de nos ferments mésophiles mixtes.

Dans notre travail, douze ferments mixtes sont préparés composés de souches de bactéries lactiques déjà identifiées est sélectionnées sur la base des résultats de leur propriétés technologiques.

- * **FM 1** ; *Lb.plantarum* (LbJ1) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM2** ; *Lb.plantarum* (LbJ1) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM3** ; *Lb.plantarum* (LbD29) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM4** ; *Lb.plantarum* (LbD29) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM5** ; *En.faecium* (EnJ70R) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM6** ; *Lb.plantarum* (LbJ14) avec *P.pentasaceus* (PeJ138).
- * **FM7** ; *En.faecium* (EnJ65R) avec *P.pentasaceus* (PeJ138).
- * **FM8** ; *Lb.paracasei* (LbJ7) avec *Lc.lactis* (LcJ45).
- * **FM9** ; *Lb.paracasei* (LbJ7) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM10** ; *Lb.plantarum* (LbJ14) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM11** ; *Lc.lactis* (LcJ45) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM12** ; *Lb.plantarum* (LbJ1) avec *P.pentasaceus* (PeJ138).

1.2. Activités biotechnologiques des ferments mixtes (FM)

Les FM choisis après sélection ont été soumis aux tests; de l'activité acidifiante et de mesure de pH dans un intervalle de 4h, 16h, 36h, 48h et 72h, des activités protéolytique, Lipolytique et aromatisant selon les mêmes protocoles décrits dans la **fiche techniques n° 02**.

Seule l'activité texturant a été réalisée par une méthode différente décrite par **Hadef (2012)**. Ce test a été réalisé dans du "lait écrémé" reconstitué à 12% avec du saccharose à 12%, l'ensemencement a été effectué dans des tubes à essai contenant 10 ml de milieu inoculé avec 2ml de suspension jeune des FM. Un résultat positif se traduit par la formation d'un gel mucilagineux après une incubation de 24h à 30C°.

2. Essais de fabrication de fromages frais de type "*Jben*"

Réalisé au laboratoire de recherche, les fromages frais ont été préparés selon le protocole décrit par **Hadef (2012)**. Le but était d'essayer de fabriquer des fromages type *Jben* en utilisant des levains FM acidifiants choisis parmi les isolats lactiques préalablement isolés et caractérisés.

Les étapes suivies étaient les suivantes:

- * Les FM adoptés à la fromagerie ont été régénérés à partir d'un mélange de deux BL avec un volume de 1/1. Ils ont été inoculés dans le lait écrémé stérile reconstitué à 10% puis incubé 16h à 30C° jusqu'à atteindre une population bactérienne d'environ 10⁸ UFC/ml.
- * Six litres de lait cru de vache ont été enrichis en poudre de lait écrémé à raison de 10%. Après un traitement thermique de 5 minutes à 90 °C.
- * Après avoir ramené le lait pasteurisé à la température de 30°C, le volume de lait a été réparti en deux récipients stériles chacun contenant 3 litres de lait.
- * Un inoculum de 3,5% du FM a été additionné à chacun des deux récipients.
- * Après environ 4 heures d'incubation à 37°C et la formation du caillé, les fromages frais préparés ont été transformés dans des sacs de mousseline stérile pour subir l'égouttage.
- * Les morceaux secs des fromages frais préparés ont été récupérés lorsque l'étape de l'égouttage est terminée, ils sont ensuite emballés avec du papier alimentaire, étiqueté et conservé à 4°C jusqu'au moment d'usage.
- * La qualité des fromages préparés a été évaluée par des contrôles physico-chimiques, microbiologiques et des analyses sensorielles après 0,7, 14 et 21 jours de conservation à 4°C.

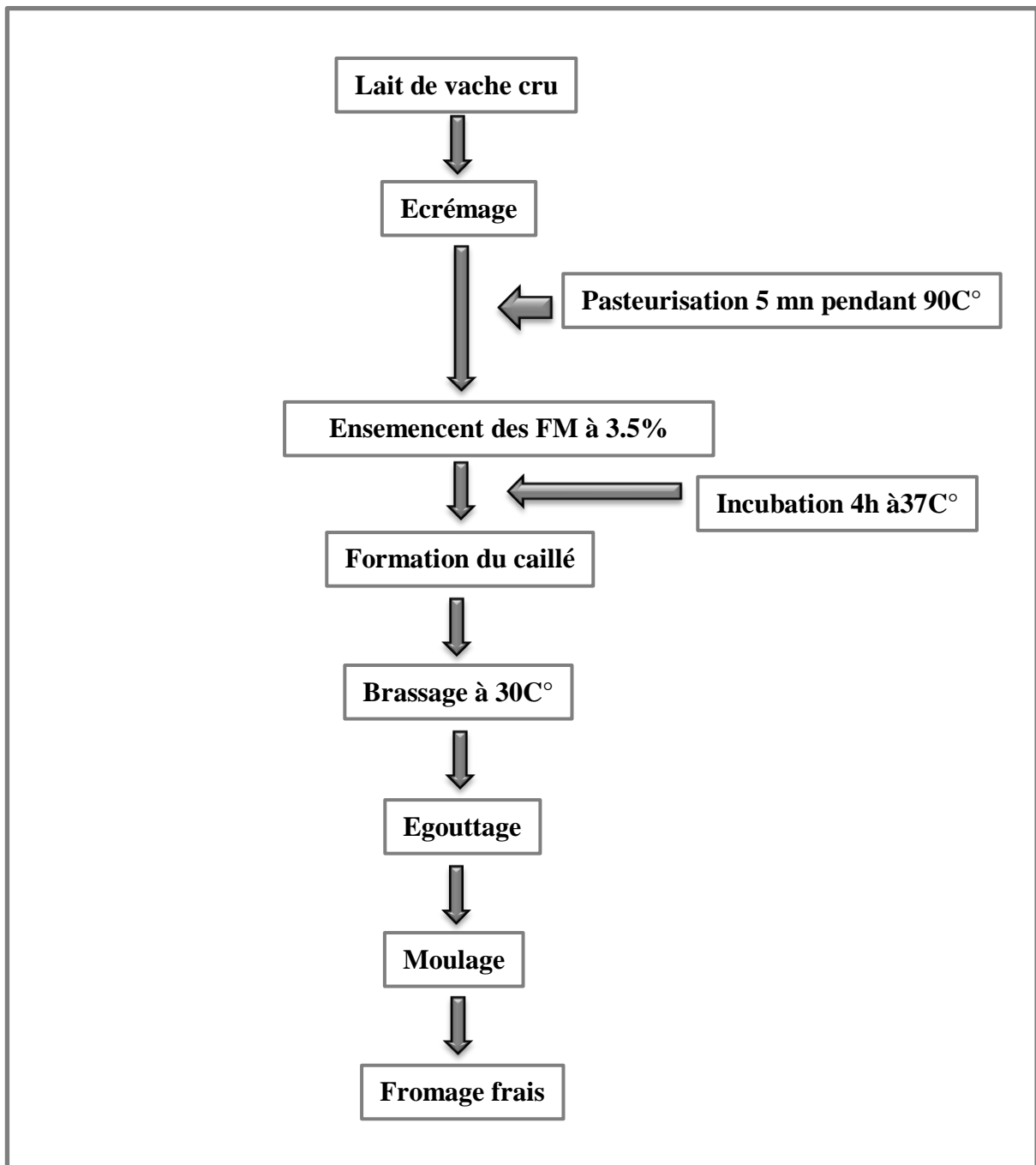
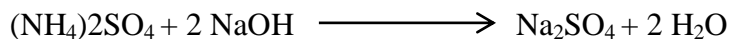


Figure n°05 : Diagramme de fabrication d'un fromage frais

3. Contrôle physico-chimique des fromages frais préparés

3.1. Teneur en azote total

Dans le domaine alimentaire, la méthode de référence "Kjeldahl" était adoptée pour doser la matière azotée, selon **AOAC (2000)**. Cette méthode est basée sur la conversion de l'azote organique en azote minérale sous forme ammoniacale $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ par l'action oxydative de l'acide sulfurique bouillant sur la matière organique en présence d'un catalyseur de minéralisation (Na_2SO_4 17g/100g ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 1.5g/100g). La minéralisation des échantillons (1g de fromage) se fait dans une cuve pendant 3h à 420°C°. Le produit principal de la minéralisation est le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ obtenu par l'ajout de l'acide sulfurique (H_2SO_4). Par la suite, une base forte (NaOH) est ajoutée selon la réaction suivante:



Au cours de la distillation l'hydroxyde d'ammonium formé (NH_4OH) est entraîné par la vapeur d'eau et récupéré dans un vase de titrage contenant une solution d'acide borique en excès. Le borate d'ammonium formé ($(\text{NH}_4)_3\text{BO}_3$) fait augmenter le pH de la solution. Ainsi l'ammoniaque piégée par l'acide borique contenu dans l'Erlenmeyer est titrée par l'acide sulfurique jusqu'au virage de l'indicateur coloré, le rouge de méthyle (couleur rose rouge). Le volume d'acide sulfurique ajouté correspond à l'ammonium contenu dans l'échantillon du départ

Les résultats finaux ont été exprimés en pourcentage d'azote total (% NT) :

$$* \text{ NT} = (\text{V1} - \text{V0}) \times 0.14 \times 10 / \text{P}$$

$$* \text{ Taux protéines (g/100g fromage)} = 6.38 \times \text{NT}$$

V1 : volume d' H_2SO_4 nécessaire au titrage de l'échantillon en ml ;

V0 : volume d' H_2SO_4 nécessaire au titrage du blanc en ml ;

P : masse de l'échantillon du fromage en g ; 6.38 : facteur protéique.

3.2. Détermination de la matière grasse

Conformément aux normes **JORA arrêté n° 67 du 12 novembre 2014**. La détection de la matière grasse (MG) a été réalisé par la méthode dite Van Gulik ou Gerber. La matière grasse possède une densité inférieure à celle des autres composants est séparée par centrifugation en utilisant un butyromètre. Les protéines sont dissoutes par l'acide sulfurique, puis ensuite séparation de la matière grasse par centrifugation. 3g de fromage ont été pesés et introduits dans la panse du butyromètre, le bouchon a été fixé au col, puis 10 ml d'acide sulfurique, 1 ml d'alcool isoamylique et 8 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Le butyromètre a été bouché afin

Matériel et Méthodes

de pouvoir agiter énergiquement et retourner plusieurs fois le butyromètre pendant une trentaine de secondes afin de mélanger les phases. Puis une centrifugation a été réalisée pendant cinq minutes à 1000 tours/minute. La lecture du pourcentage de matière grasse a été faite directement grâce aux graduations présentes sur le butyromètre.

Les résultats finaux ont été exprimés en pourcentage de MG selon la formule:

$$\text{MG. \%} = \text{lecture} \times 11 / \text{prise d'essai}$$

3.3 Détermination de la matière minérale

La teneur en matière minérale "MM" est réalisée dans des creusets propres séchés et tarés où 10g fromage est placé puis incinéré dans un four à moufle sous une température de 500°C (AOAO, 2000). La teneur en matière minérale est calculée suivant l'équation ; $\text{MM (\%)} = \text{X/Y} \times 100$.

MM : matière minérale ;

X : poids de l'échantillon en gramme après étuvage ;

Y : poids de l'échantillon en gramme avant étuvage.

3.4. Détermination de la matière sèche

La détermination de la matière sèche "MS" a été réalisée selon le meme protocole utilisé pour la mesure de la MM, la différence réside dans la température d'incinération dans le four Pasteur qui a été fixé à 120°C (AOAO, 2000). La MS est déterminée par des pesées répétées jusqu'à avoir un poids constant. Le résultat est exprimé de la manière suivante

$$\text{MS (\%)} = \text{X/Y} \times 100.$$

3.5. pH et acidité titrable

Dans une fiole conique, 90 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 10 g de fromage, le mélange a été bien agité puis laissé au repos pendant 20min. Le pH a été déterminé en utilisant un pH-mètre. Pour la détermination de l'acidité 10ml du produit était prélevé, ajouter de 0.1ml de phénolphthaléine puis titrer avec du NaOH N/9 jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle persistante (Lim, 2017).

Pour le lait cru, la détermination de l'acidité titrable a été effectuée selon AN : 678 (1989). Les expériences ont été menées dans des conditions constantes.

4. Contrôle microbiologique des fromages frais préparés

Conformément aux normes Algériennes surtout les articles cités dans les JORA n°39 du 2 juillet 2017, n°42 du 15 juin 2005, n°70 du 07 novembre 2004, n° 03 du 18 janvier 2006, n°68 du 23 novembre 2014 et n° 43 du 04 juillet 2004. Les analyses microbiologiques des fromages frais préparés et de lait ont été réalisées selon les protocoles expliqués ci-dessous:

4.1. Préparation des échantillons

La solution mère est préparée avec 10 g de fromage et 90 mL d'eau physiologique stérile, on obtient alors la dilution 10^{-1} , à partir de cette dernière on prépare une série de dilution allant jusqu'à la dilution 10^{-6} . Pour l'analyse microbiologique du lait cru, la solution mère est préparée de la même façon sauf qu'on ajoute à 90 mL d'eau physiologique stérile avec 10 mL de lait cru.

4.2. Dénombrement des Coliformes (*E. coli*)

Le milieu utilisé est le VRBL (gélose biliée lactosée au rouge neutre et violet cristal). Sur ce milieu, les coliformes fermentent le lactose en donnant des colonies d'un diamètre de 0,5 à 1 mm. Les dilutions utilisées sont 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} . Après avoir mis 1 ml d'échantillon dans les boîtes, on ajoute 10 à 15 ml de VRBL (ensemencement dans la masse) suivi d'une incubation à 37°C pendant 24h. Le dénombrement est ensuite réalisé par la méthode du NPP selon la table de Mac Crady.

4.3. Dénombrement de Staphylocoque à coagulase positive

50g de fromage/ 50 ml du lait cru sont prélevés, en prenant toutes les mesures possibles de l'aseptie, et placés dans des flacons stériles numérotés. Au laboratoire, on a réalisé de façon stérile le broyage de 20 g de fromage dans 80 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'un mixeur ou simplement le mélange de 20 ml du lait avec la même quantité d'eau. A partir de la fine suspension obtenue on a réalisé des dilutions allant de 10^{-2} à 10^{-7} . Pour la recherche et le dénombrement des staphylocoques, on a utilisé un milieu Baird-Parker BBL modifié. En effet, afin d'obtenir une coloration noire plus intense et plus brillante des colonies de staphylocoques, la concentration du milieu en Tellurite de Potassium a été doublée. L'ensemencement du milieu coulé en boîte de Pétri est effectué de deux manières différentes pour chaque échantillon: d'une part, étalement de 0,1 ml des solutions diluées, d'autre part, ensemencement « de contrôle » à l'ose bouclée à partir de la « solution mère » du mixer. La lecture des boîtes n'est faite qu'après 24 h et 48 h d'incubation à 37° C. Les colonies suspectes sont repiquées sur milieu liquide *Heart infusion Broth* (Dif-Co) en tubes à essai. Ces tubes ont ensuite été placés à l'étuve à 37° C pendant 24 h. Le caractère coagulase-positif est ensuite mis en évidence en mélangeant 0,5 ml de plasma *coagulase Rabbit* (BBL) et 0,05 ml de culture dans des tubes étroits placés dans un bain-marie à 37° C.

Matériel et Méthodes

Les résultats sont lus tous les 1/4 h pendant 4 h et un dernier examen des tubes est effectué après 24 h pour dépister les réactions tardives.

4.4. Recherche des *Salmonella* sp.

La méthode utilisée pour la recherche des Salmonelles est décrite dans l'Arrêté du 23 janvier 2005 publié dans le **JORA n° 42 du 15 juin 2005**

- * **Pré-enrichissement** : 1ml de la suspension mère à analyser est introduit dans un tube contenant 10 ml d'eau péptonée tamponnée préalablement stérilisé. La préparation est homogénéisée puis incubée à 37°C pendant 24 heures.
- * **Enrichissement** : L'enrichissement proprement dit, se fait à partir du milieu de pré-enrichissement en inoculant 1ml dans des flacons de bouillon au sélénite cystéine (l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures).
- * **Isolement** : Chaque flacon fera l'objet d'un isolement sur milieu gélose SS, on étale 0.1ml de bouillon SFB à la surface de la gélose SS, puis incubée à 37°C pendant 24 heures.
- * **Lecture des boîtes et identification** : Après incubation, repérer les colonies transparents avec ou sans centre noir, et faire la coloration de Gram, s'il s'agit de bacilles Gram -, on procède à une identification par API20E.

4.5. Recherche de *Listeria monocytogenes*

Cette recherche comporte les étapes suivantes ;

- * Deux enrichissements successifs à partir du prélèvement de 25g/ 25 ml d'aliment: d'abord en bouillon de Fraser un-demi incubé 24h à 30°C puis en bouillon de Fraser incubé 48h à 37°C.
- * Isollements sur milieux sélectifs (le milieu Palcam) puis incubation 24 à 48h à 37°C.
- * Après les périodes appropriées d'incubation, un test de confirmation a été réalisé ; d'un côté par un repiquage sur milieu Palcam avec la culture issue de second enrichissement, et d'autre par le repiquage de 3-5 colonies de premier ensemencement sur milieu TSYEA en vue d'une purification.
- * Les tests phénotypiques portant essentiellement sur la morphologie, la coloration de Gram, le test de la catalase et les tests biochimiques, vont permettre une identification des isolats suspects au niveau du genre et au niveau de l'espèce.

5. Evaluation sensorielle des fromages frais préparés

L'évaluation consiste à comparer les 04 fromages :

- * un fromage frais fabriqué avec le ferment mixte FM4 dénommé (FC1)
- * un fromage frais fabriqué avec le ferment mixte FM5 dénommé (FC2)
- * un fromage frais fabriqué avec le ferment mixte FM4 + l'huile essentielle de *Cinnamon cassia* (HECC) dénommé (FC1 + HECC)
- * un fromage frais fabriqué avec le ferment mixte FM5 + l'huile essentielle de *Cinnamon cassia* (HECC) (FC2 + HECC)

L'analyse sensorielle des échantillons de *Jben* préparés par nos ferments mixtes a été réalisée par un panel de vingt-cinq dégustateurs. Les dégustateurs ont été invités à évaluer l'odeur, la saveur et la texture des échantillons et à attribuer une note d'acceptabilité de l'échantillon allant de 1 à 10. Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, ils doivent se rincer la bouche avec de l'eau afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent. (Zolfaghari et Ansar, 2020).

6. Effets de l'addition de l'huile essentielle de *Cinnamon cassia* sur les fromages frais préparés

6.1. Extraction de l'huile essentielle (HE)

L'extraction de l'HE de cannelle a été réalisée par hydro-distillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Après broyage des écorces de cannelle, 100 g d'écorce de *Cinnamon cassia* sont placés dans un ballon d'un litre et environ 300 à 400 ml d'eau distillée sont ajoutés. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon électrique pendant environ 3 heures avec un débit de d'écoulement du distillat régulier d'environ 3ml/min. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielles en traversant une surface froide (tube réfrigérant ou condensateur) se condensent puis s'écoulent à l'état liquide dans un récipient de récupération. L'opération est poursuivi jusqu'à ce que le distillat devienne parfaitement limpide.

Après décantation, l'huile essentielle est récupérer par aspiration l'aide d'une pipette-pasteur. La phase organique séchée par le K_2CO_3 anhydre a été filtrée, concentrée sous faible pression. L'huile essentielle ainsi obtenue est conservée à 4°C dans un flacon étanche et à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation (Senhaji et al., 2006 ; Akbli et al., 2016).

6.2. Identification des composées de l'HE par la Chromatographie gazeuse couplée la spectrométrie de masse (CG/MS)

La composition chimique de l'HE de cannelle cassia a été déterminée par un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent 6890 couplée à un spectre de masse Agilent 5973N (CG-MS). Les conditions chromatographiques sont les suivantes : une colonne

Matériel et Méthodes

capillaire HP-5MS (5 % -phényl- 95 % diméthylpolysiloxane, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), le gaz vecteur est l'hélium (0,5 ml/mn), La température du four à colonne évoluait progressivement à 2C°/minute de 60 à 250°C où les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues respectivement à 250 et 270°C. Le volume d'échantillon d'huile essentielle injecté par le mode split est de 0.2 µl à un rapport de division de de 50:1 et le détecteur sélectif de masse fonctionne en mode ionisation électronique (70 eV) un balayage sur une gamme de masse allant de 40 à 500 unités avec une vitesse de 0.5 sec et un filament de 300 µA. Les spectres de masse obtenus ont été comparés à une base de donnée de spectres de masse de référence (Costa et al., 2014 ; Khajehie et al., 2017).

6.3. Incorporation de l'HE de *Cinnamon cassia* dans les fromages frais préparés

La quantité d'HE ajoutée a été déterminée en fonction de la concentration minimale bactéricide (CMB) contre les BL.

Pour évaluer l'activité antibactérienne de l'HE de *Cinnamon cassia* contre les BL qui constituent les ferments mixtes, la méthode de diffusion en puits sur gélose MH a été utilisée (Schillinger et Lücke, 1989) comme décrit dans la **fiche technique n°3**.

6.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HECC

La CMI de l'HECC a été déterminée selon le protocole décrit par Hesses et Simoud, (2018). Une série de dilution de l'HE de thym dans le milieu gélosé MH est réalisée en commençant par une dilution à 2% jusqu'à la dilution de 0.03%. Elles sont préparées comme suit :

- * Incorporer 1 ml de l'HECC dans 49 ml d'un milieu gélosé MH liquéfié. Agiter afin d'homogénéiser le mélange. Ainsi, une dilution (D0) à 2% volumes à volumes (v/v) a alors été obtenue.
- * Ajouter 25 ml du milieu gélosé liquéfié MH au 25 ml de D0 à 2% afin d'obtenir une dilution (D1) à 1%.
- * Prélever 25 ml de D1 à laquelle on ajoute 25 ml du milieu gélosé liquéfié MH, ainsi on obtient une dilution (D2) à 0,5%.
- * Poursuivre les mêmes étapes afin de réaliser les dilutions : D3 à 0,25%, D4 à 0,125%, D5 à 0.03% et D6 à 0.06%.

- * Après solidification des milieux, les différentes suspensions microbiennes ont été étalées à l'aide d'un écouvillon sur le MH et les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.
- * La CMI correspond à la plus petite concentration en huile essentielle inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu.

6.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'HECC

La CMB est la concentration de la substance antibactérienne exerçant un effet bactéricide et permettant d'obtenir, après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C, 0,1 % de germes, c'est-à-dire une bactérie pour 1000 de l'inoculum initial.

Pour la détermination de la CMB, la surface de chaque zone d'inhibition obtenue avec les différentes dilutions de 2% à 0.06% (Test de CMI) est raclée à l'aide d'une pipette Pasteur. Ensuite des tubes de bouillon nutritif sontensemencés par les morceaux de gélose raclés. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h. L'absence de croissance dans les tubes inoculés, indiquant un effet bactéricide et le tube contenant aucune croissance (pas de trouble) est déclarée comme contenant la CMB, égale à la concentration où on a raclé au départ (Salama et Marraiki, 2010).

6.4. Contrôle des fromages préparés traités par l'HE de *Cinnamon cassia*

L'effet de l'incorporation d'HE aux fromages frais a été étudié par le contrôle physicochimique, microbiologique et sensoriel des échantillons en appliquant les tests similaires effectués pour les fromages sans HE.

Selon les instructions décrites dans la fiche technique n°1 le dénombrement des BL a été aussi effectué.

Les tests retenus ont été réalisés après 7, 14 et 21 jours de conservation à froid des échantillons.

7. Etude Statistique

Les logiciels GraphPad Prism9 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) et XLSTAT 2021.5.1.1225 sont utilisés pour l'analyse des données expérimentales de notre étude. Le test de Tukey et l'analyse de la variance (ANOVA) sont également utilisés, l'intervalle de confiance à 95 % a été retenu.

I. Isolement et caractérisation des BL

Le présent travail a été réalisé dans le but d'établir une collection de BL propre à notre laboratoire de recherche. Les souches lactiques isolées, purifiées et identifiées à partir d'une gamme de produits laitiers fermentés artisanalement sur la base de leurs caractéristiques biotechnologiques et probiotiques.

A partir de 87 échantillons de produits laitiers artisanaux, 175 souches lactiques ont été isolées et purifiées.

Les colonies obtenues sur les deux milieux de culture MRS et M17 partagent presque des caractéristiques communes; sur le plan macroscopique : ces colonies ont un périphérique régulier, majoritairement blanchâtres et occasionnellement jaunâtres, de petite ou moyenne taille. Cependant ces colonies se différencient microscopiquement : sur la gélose MRS les isolats ont une forme de bâtonnet ou bâtonnet plus au moins allongé généralement isolés où on trouve rarement des colonies assemblées en quatre. Toutefois, sur la gélose M17 sont plutôt marqués par leur forme cocci avec un groupement en diplocoque en chaînettes ou isolées. Tous les isolats des BL se sont montrés catalases négatives.

Sur la base des tests préliminaires d'identification (**Tableau n°03**), les 175 isolats sont préventivement attribués aux genres : *Lactococcus* avec 99 isolats (56.58%), *Lactobacillus* 45 isolats (25.58%), *Enterococcus* 20 isolats (11,62%) et *Pediococcus* 11 isolats (6.20%), (**Figure n° 06**).

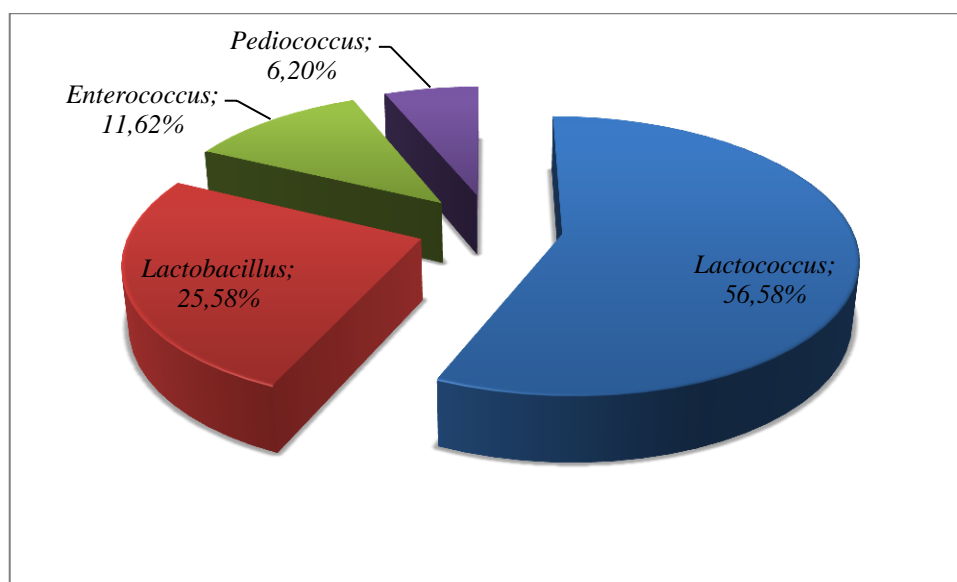


Figure n°06 : La répartition des BL isolées en fonction du genre

Tableau n°03: Profil phénotypique des souches isolées.

Caractéristiques	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Pediococcus</i>
Morphologie	bacilles	coques	coques	coques
Formation des tétrades	-	-	-	+
Test de catalase	-	-	-	-
Gaz à partir de glucose	±	-	-	-
Croissance à 10°C	±	+	+	±
Croissance à 45°C	±	+	-	±
Croissance 6.5% NaCl	±	+	-	±
Croissance à pH 4.4	±	+	±	+
Croissance à pH 9.6	-	±	-	-
Nombre d'isolats	45	20	99	11

L'analyse des résultats obtenus nous a permis de constater que la répartition des genres bactériens varie selon la nature de l'échantillon (**Tableau n°04**).

Tableau n° 04 : La répartition des souches lactique selon le genre et selon leur origine.

Genres	Produits laitiers				
	Jben	Klila	Bouhezza	Zebda	Dhan
<i>Lactococcus</i>	56	15	10	9	9
<i>Lactobacillus</i>	17	18	3	2	5
<i>Enterococcus</i>	2	10	5	0	3
<i>Pediococcus</i>	9	2	0	0	0

La microflore lactique isolée était majoritairement issue du "Jben", avec une dominance du genre *Lactococcus* (56 souches) suivi de *Lactobacillus* (17 souches). La préparation traditionnelle de fromages non affinés de type "Jben" à base de lait cru peut avoir un impact sur sa composition chimique et biologique. Du fait qu'aucune bactérie starter n'est ajoutée à la préparation, la microflore du "Jben" est à l'origine de la matière primaire, comme c'est le cas des BL (non starter) qui sont responsables de la production de l'arôme du fromage (**Bluma et Ciprovica 2015 ; Muruzovi et al., 2018**). **Guetouache et al., (2015)** ont pu isoler et caractériser des BL à partir de cinq fromages Algériens de type "Jben". Ils ont également constaté que les genres *Lactococcus* et *Lactobacillus* étaient les plus répandus et que parmi les vingt-neuf isolats Gram-positif et catalase-négatif qu'ils ont pu identifier, un large éventail d'espèces comprenant *Lc. lactis*, *Lc. raffinolactis*, *Lc. cremoris*, *Lb. plantarium*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. fermentum* a été signalé. Dans une étude récente, **Muruzovi et al., (2018)**, ont constaté que la flore lactique est dominante dans les fromages traditionnels serbes fabriqué localement à partir du lait cru non pasteurisé appartenait aux espèces des genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus*.

La flore microbienne du Klila est caractérisée par une distribution presque égale de *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus*. Ce fromage traditionnel, consommé frais ou séché, est fabriqué à partir de lait fermenté "Le Lben", traditionnellement obtenue en acidifiant naturellement du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre sous l'action de la fermentation de flores lactiques. D'après ces études, la microflore de ce fromage se distingue par une collection de BL mésophiles responsables de la fermentation lactique et du développement de l'arôme dans la matière primaire "Lben" (**Mennane et al., 2007 ; Samet et al., 2010 ; Meribai et al., 2017**). La dominance d'un groupe sur un autre varie selon le type de lait utilisé dans la préparation. **Guetouache et Guessas (2015)** ont isolé à partir des échantillons de Klila de la région de Djelfa 132 souches lactiques appartenant au genre *Lactobacillus* avec une dominance de l'espèce *Lb. fermentum*. Ils ont constaté que cette variabilité, dépend du type de lait utilisé, du prétraitement, des conditions de fermentation et du traitement final.

Dans une autre étude menée par **Benamara et al., (2016)**, une prépondérance de *Lactobacillus* et *Enterococcus* a été observée dans trois échantillons de Klila à base de lait de brebis, chèvre et vache collecté dans les zones rurales de Naama. Ils ont également démontré que les souches appartenant au genre lactobacilles étaient abondantes dans le Klila fabriqué à partir de lait de vache, dont 65 % appartenait à l'espèce *Lb. plantarum*, ceux qui appartiennent au genre d'*Enterococcus* était dominantes dans les Klila fabriqués à base de lait de brebis, avec une prédominance de l'espèce *En. durans*, suggérant que cette population microbienne jouait un rôle prépondérant dans l'étape d'acidification. En outre, nos résultats sont étayés par la recherche de **Boubekri et Ohta (1996)** qui ont révélé que le type de fromage produit dépend de la composition du lait, qui à son tour varie d'un animal à l'autre et d'une espèce à l'autre, ces mêmes auteurs ont aussi constaté que la zone géographique de provenance du lait peut jouer un rôle important dans la distribution des différents genres.

Dans le fromage traditionnel Bouhezza et d'après **Medjoudj et al., (2020)**, la microflore de dix échantillons de Bouhezza produits dans les régions de Tébessa, Oum el-Bouaghi et Constantine est dominée par les espèces appartenant aux genres *Lactococcus* et *Lactobacillus*. Dans le même contexte, les travaux de **Demirci et al., (2021)** ont révélé que les genres bactériens *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Lactobacillus* sont abondants dans les échantillons de fromages affinés traditionnels Turque "Tulum", ces mêmes auteurs ont démontré que la période de maturation du fromage joue un rôle déterminant dans la distribution des genres de bactéries lactiques dans le fromage. Tandis que, l'étude de **Yerlikaya et Akbulut (2019)** sur

Résultats et Discussion

le même fromage turque "Tulum" affiné de la région d'Izmir a révélé une dominance du genre *Lactococcus* suivie de *Lactobacillus* puis d'*Enterococcus*.

Le beurre traditionnel est un produit culinaire dont la fermentation peut durer de quelques mois à plusieurs années (**Boussekine et al., 2020**). L'analyse de la flore lactique de nos 13 échantillons de beurre traditionnel (Zebda et Dhan) a démontré la dominance des genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus* (**Tableau n°04**). Conformément à nos résultats, un récent travail de **Guetouche et Bettache (2018)** sur cinq échantillons de beurre traditionnel de la région de Djelfa a montré une diversité de la flore lactique marquée par une distribution variée avec une dominance des espèces *Lb. plantarum* *Lb. fermentum* *Lc. lactis* et *En. faecalis*. **Bettache et al., (2012)** attribuent cette diversité à l'étape d'acidification qui contribue à la sélection de la flore acidifiante. Cependant **Idoui et al., (2009)** ont montré que la flore lactique isolée à partir des échantillons de Dhan de la région de Jijel est dominée par le genre *Lactococcus* particulièrement l'espèce *Lc. lactis* sp. Dans le même fil d'idée, **Yu et al., (2018)** ont rapporté que la fréquence élevée d'isolement des souches appartenant au genre de *Lactococcus* (77,73 %) dans trois échantillons de beurre russe traditionnel est due à la capacité des membres de ce genre à mieux s'adapter aux milieux riches en matière grasse. Cette étude a également confirmé l'influence directe de l'exposition des produits laitiers traditionnels aux environnements divers externes tout au long du processus de fabrication sur la composition microbiotique des produits finaux en particulier la période d'affinage dans le cas des beurres traditionnels.

Les isolats appartenant au genre *Pediococcus* sont faiblement présents dans les échantillons de Jben et de Klila et absents dans le reste des échantillons. **Adjoudj et al., (2020)**, ont rapporté que les bactéries lactiques sont les principaux responsables des caractéristiques organoleptiques du lait fermenté, le genre *Pediococcus* est peu présent dans ces produits. Selon **Singla et al., (2018)**, la faible prévalence de *Pediococcus* dans les produits laitiers est due à la croissance lente de la bactérie dans le lait. *P.pentosaceus* et *P. acidilactici* sont les deux seules espèces de *Pediococcus* qui peuvent être isolées de ces aliments. Ceci est confirmé par **Mechai et al., (2014)**, qui ont trouvés que *P. acidilactici* est l'espèce abondante dans des produits traditionnels " Raib, Klila, Lben et Jben".

II. Caractérisation biotechnologique des BL isolées

La biochimie des produits fermentés est compliquée, y compris une multitude de réactions enzymatiques. Elle conduit au développement de divers métabolites structuraux, tels que l'acide lactique, le diacétyl, et l'acétaldéhyde, mais aussi de fonctions de nature protéique, telles que les enzymes lipolytiques et protéolytiques (**Chen et al., 2017**).

Une série de tests a été utilisée pour évaluer la présence de ces caractéristiques chez notre collection de 175 bactéries aux genres *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Pediococcus*.

1. Activité acidifiante

L'activité acidifiante est l'une des fonctions les plus importantes des BL, et celles qui en sont dotées peuvent être utilisées comme culture starter. D'après **Chuah, et Mao (2020)**, les BL productrices d'acide lactique sont largement utilisées à l'échelle mondiale dans la préparation des aliments fermentés. Les résultats de l'activité acidifiante des souches testées sont respectivement représentés sur les **Figures n° 07, 08 et 09**.

L'analyse des résultats obtenus a montré que toutes les souches testées sont dotées d'un pouvoir acidifiant plus au moins remarquable, cependant, 21 d'entre elles ont une activité assez intéressante. Selon **Wassie et Wassie (2016)** les BL qui produisent de l'acide lactique principalement par le processus de fermentation, sont connues par leur rôle dans la conservation des aliments. En termes de temps, la variabilité de la production d'acide lactique était non significative ($p > 0,05$) entre les différents isolats qui composent les quatre genres. Contrairement aux isolats membres du *Lactobacillus* et *Pediococcus* la ΔD° la plus homogène qui a augmenté avec le temps était celle observée chez les isolats appartenant au genre de *Lactococcus*, où la production d'acide lactique augmente de manière progressive après 2H à 4H et de 6H à 8H jusqu'à atteindre les valeurs les plus élevées après 48 heures d'incubation. Ceux appartenant au genre d'*Enterococcus* atteignent les valeurs maximales de production après 24 à 48 heures d'incubation. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par **Garmasheva (2016)**, qui a démontré que la majorité des isolats de *Lactococcus* ont une forte activité coagulante liée à la formation de caillé avec une ΔD° similaire ($P > 0,05$). La même étude a révélé que la majorité des isolats d'*Enterococcus* produisent presque la même quantité d'acide lactique après 12, 24 et 48 heures d'incubation. En revanche, **Kalbaza et al., (2018)**

Résultats et Discussion

ont rapprêtés que de façon générale, les espèces de *Lactobacillus* fermentent le lactose lentement en produisant une quantité moins que celle produite par les espèces de *Lactococcus*.

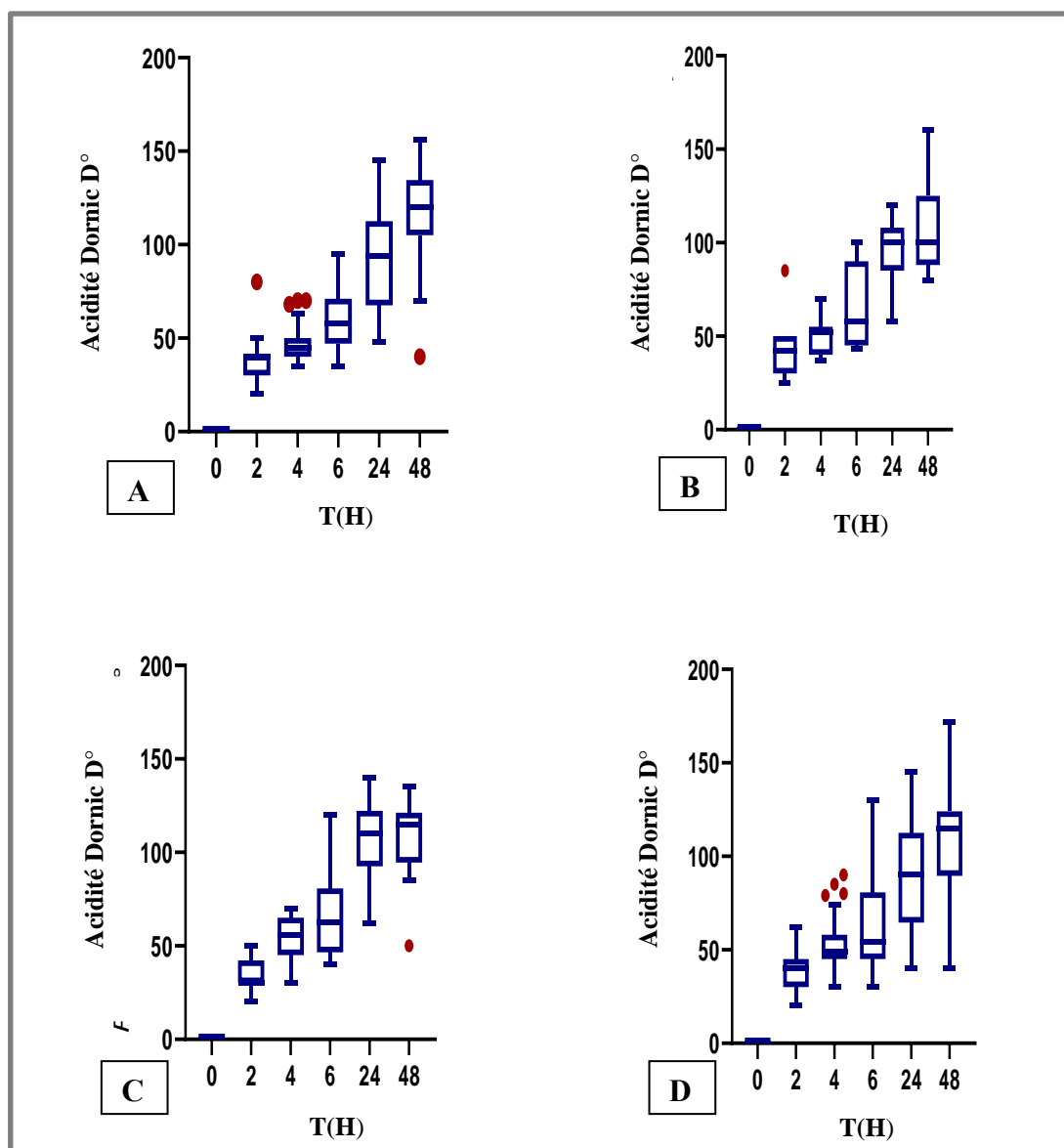


Figure n°07 : Le pouvoir acidifiant des BL isolées en fonction de temps (H), **A :** Par les membres du genre *Lactobacillus*, **B :** Par les membres du genre *Pediococcus*, **C :** Par les membres du genre *Enterococcus* et **D :** Par les membres du genre *Lactococcus*

L'acidité titrable atteint des valeurs importantes par les isolats appartenant aux genres d'*Enterococcus* et *Lactococcus* (**Figure n° 07**) dans l'intervalle de 4-24 heures et par les isolats appartenant aux genres de *Lactobacillus* et *Pediococcus* après 48 heures d'incubation. Le temps de coagulation du lait était également lié au produit à partir duquel les souches ont été isolées (**Garmasheva, 2016**), L'étude de **Zarour et al., (2018)** a illustré l'impact de

Résultats et Discussion

l'environnement local sur les différences dans les profils d'acidité et les effets de coagulation observées dans les isolats lactiques d'origine laitiers et non laitiers.

Concernant le pouvoir acidifiant des 21 souches lactiques sélectionnées (**Figure n° 8**), nous avons constaté qu'après 2H d'incubation, la quantité de l'acide lactique produite par les souches appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Lactococcus* se situe respectivement entre **2,1-5 g/l**, **2-5g/l** et **3,1-4,7 g/l**. ces valeurs augmentent progressivement jusqu'à atteindre respectivement **15,6g/l**, **13,5g/l** et **15,5g/l** après 48H. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Getouche et al., (2015)** et **Ketrouci et al., (2021)**, qui ont démontré que les souches lactiques isolées de produits laitiers produisent des quantités d'acide lactique estimées entre 8,7g/l et 8,6g/l après 48H d'incubation.

Pour la souche de *Pediococcus* sélectionnée "**PeJ138**", la production d'acide lactique commence par une quantité de 3g/l. Elle atteint une valeur maximale de 10,8 g/l après 24 heures puis elle diminue progressivement après 48 heures pour atteindre 10.0 g/l. Cette production s'accompagne d'une diminution du pH avec une Δ pH de 0,49 seulement dans les 2 premières heures d'incubation, l'abaissement du pH se poursuit jusqu'à atteindre une valeur plus basse au bout de 48 heures d'incubation (4,39). Les souches *Pediococcus* sp. testées ont montré une intrigante cinétique d'acidification, avec une diminution du pH de 4,5 à 3,6 créant un environnement protégé qui inhibe la croissance de micro-organismes indésirables ou pathogènes dans l'étude de (**Adesulu-Dahunsi et al., 2021**).

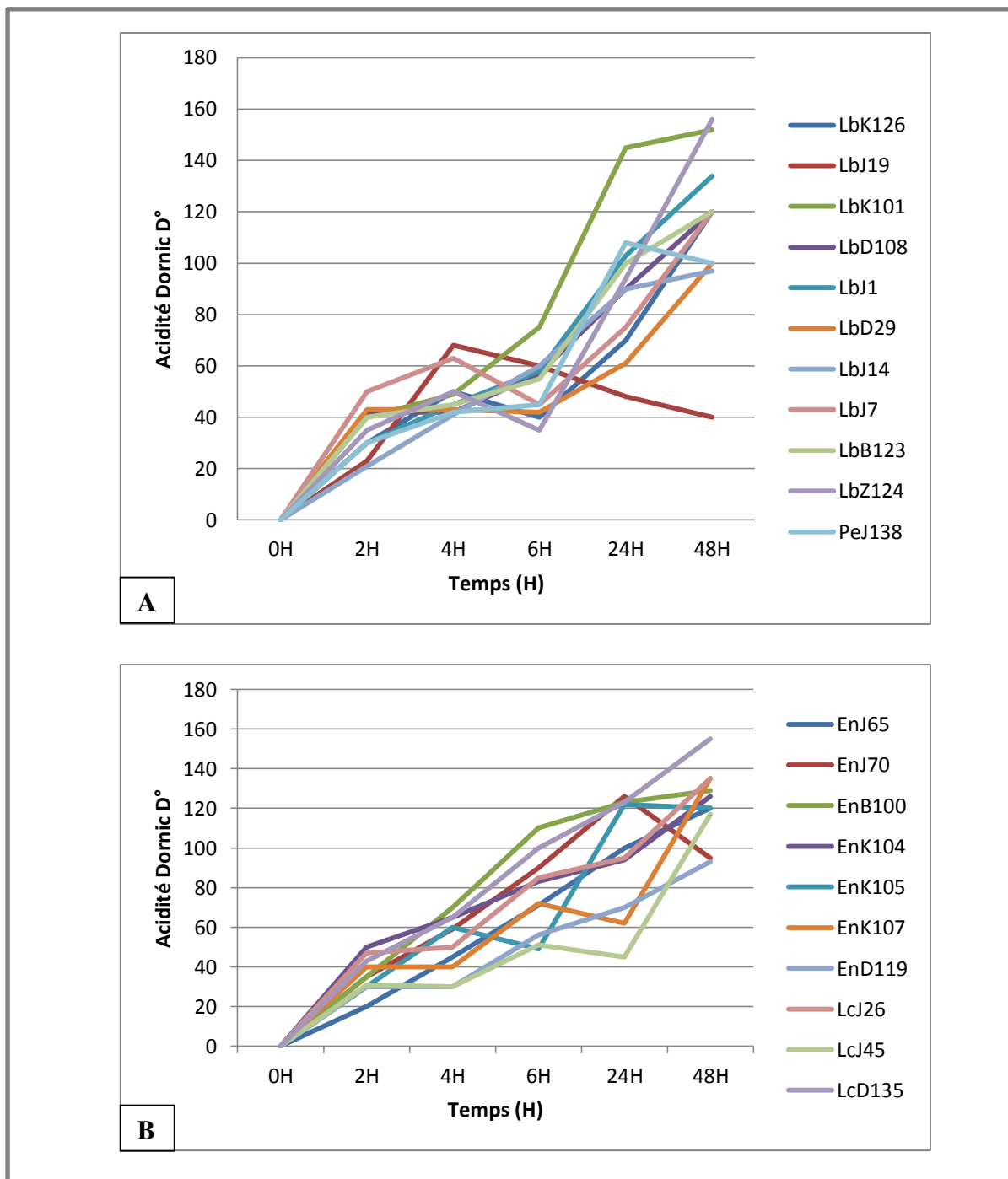


Figure n°08 : Cinétique de production d'acide lactique : **A :** souches du genre *Lactobacillus* (LbK126, LbZ124, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124) et *Pediococcus* (PeJ138). **B :** souches du genre *Enterococcus* (EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119) et *Lactococcus* (LcJ26, LcJ45 et LcD135).

Résultats et Discussion

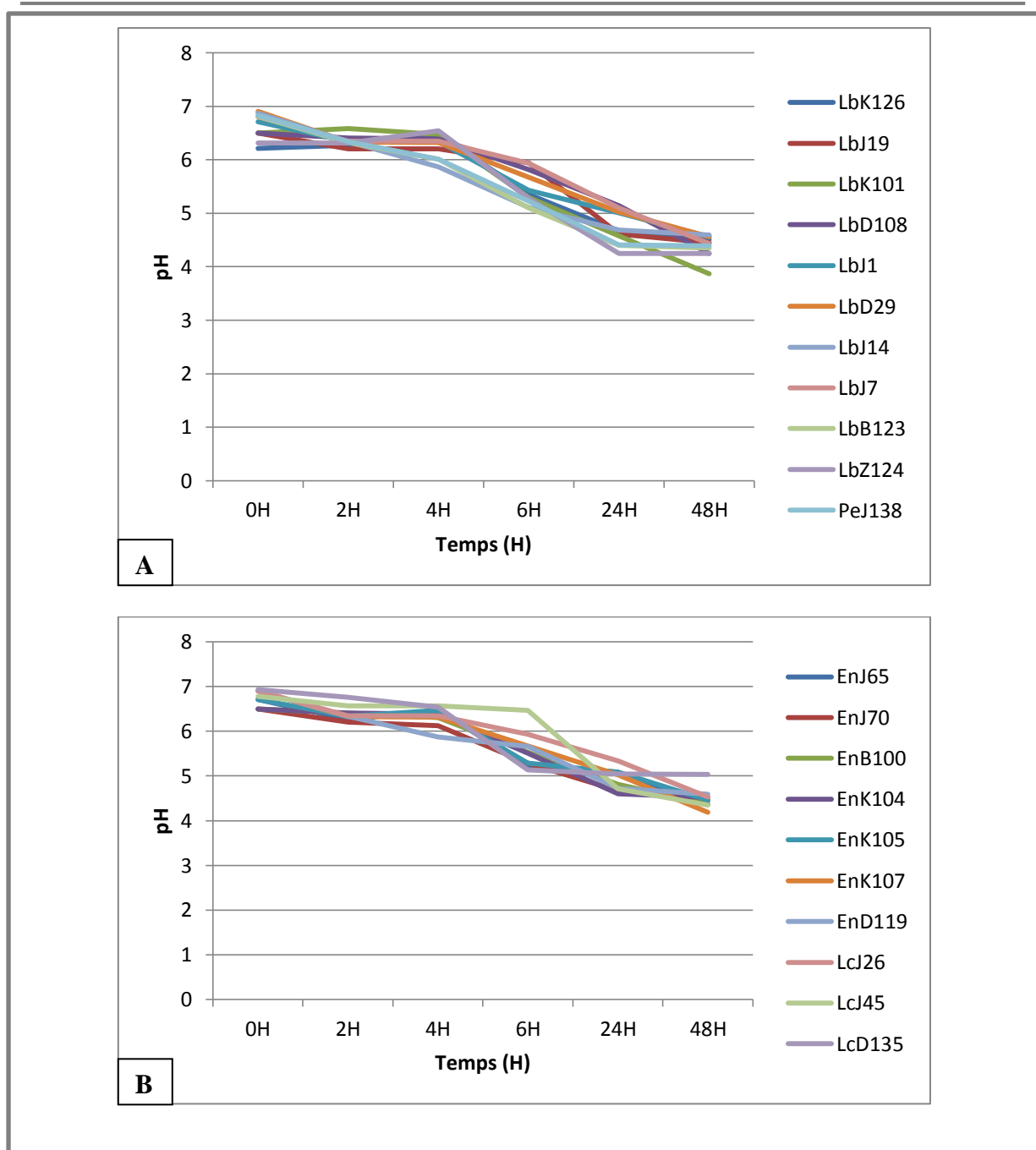


Figure n°09 : Variation de pH de milieu en fonction de temps (H), **A** : souches du genre *Lactobacillus* (LbK126, LbZ124, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124) et *Pediococcus* (PeJ138). **B** : souches genre *Enterococcus* (EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119) et *Lactococcus* (LcJ26, LcJ45 et LcD135).

Selon **Beresford et al., (2001)**, une culture *starter* est définie comme un isolat qui synthétise suffisamment d'acide pour réduire le pH du milieu à une valeur $<$ à 5,3 en 6 heures à 30-37°C. Cette définition est valable pour les isolats lactiques, LbK101, LbJ14, LbB123, LbZ124, PeJ138, EnJ65, EnJ70, EnK105 et LcD135 qui ont montré des valeurs pH inférieur

à 5.3. La diminution rapide de pH est un facteur crucial pour la formation des caillés dans les produits alimentaires (Ribeiro *et al.*, 2014). Contrairement à ce qui a été reporté par Ziadi *et al.*, (2016), les souches du genre d'*Enterococcus* avaient démontré un pouvoir 'acidifiant remarquable, et le pH du laitensemencé avec les souches EnJ65, EnJ70 et EnK105 est réduit au bout de 6H d'incubation pour atteindre des valeurs en dessous de 5,23, 5,29 et 5,29 respectivement. Certaines études ont montré les espèces du groupe *Lactococcus* peuvent fermenter rapidement le lait en abaissant le pH du milieu. Au même fil d'idée, Kondrotiene *et al.*, (2020) ont remarqué que plusieurs souches de *Lactococcus* sont caractérisées par leur bon pouvoir acidifiant avec une diminution du pH égale (1 unité) dans les premières 6 heures d'incubation à 30-37°C. Les 10 souches appartenant au genre *Lactobacillus* ont montré un comportement différent à la règle avec un changement de pH rapide entre 5,94 et 5,10. Ceci est cohérent avec les résultats de Freire *et al.*, (2015), qui ont constaté que *Lb. fermentum*, seul ou dans un ferment mixte, provoque une chute rapide du pH de 6,0 à 5,0-4,0.

2. Activité Protéolytique

L'activité protéolytique des BL a été largement étudiée grâce à leur mécanisme bien compris qui peut aider à l'hydrolyse des protéines complexes pour libérer les AA utilisés dans l'industrie et, surtout, dans la formulation de compléments alimentaires (Lim *et al.*, 2019).

L'activité protéolytique de BL isolées a été évaluée en milieu solide additionné de lait écrémé afin de visualiser directement l'activité de protéolyse extracellulaire. Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont résumés dans le **Tableau n°05** et le **Figure n°10**. Il en ressort de l'analyse de ces résultats que toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des disques. Selon la définition adopté par Yelnetty *et al.*, (2014), une souche lactique est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm . De ce postulat, nos isolats sont révélées protéolytiques dont les diamètres des zones de protéolyse étaient compris entre 9 et 15mm.

Toutefois nous avons constaté que les isolats des deux genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* sont caractérisés par une forte activité protéolytique. 9,10% et 10,87% des souches apparentent respectivement à ces deux genre ont donné des zones claires autour des colonies avec des diamètres supérieur à 15 mm (**Figure n°11**). L'activité protéolytique des *Lactococcus* et *Lactobacillus* des produits fermentés a été examiné dans plusieurs études comme de Ma *et al.*, (2011) ; Mechai *et al.*, (2014) ; Dib *et al.*, (2014) ; Fguiri *et al.*, (2016)

Résultats et Discussion

et **Getouche et al., (2018)**. Ces deux types ont des attributs technologiques qui les qualifient de bons candidats pour une utilisation industrielle fondée sur toutes ces investigations.

Concernant les isolats présélectionnés, Il apparaît clairement que les LbJ1, LcJ26, LcJ45, LcD135 sont caractérisé par une très forte activité protéolytique avec des zones d'hydrolyse supérieurs à 16 mm de diamètre

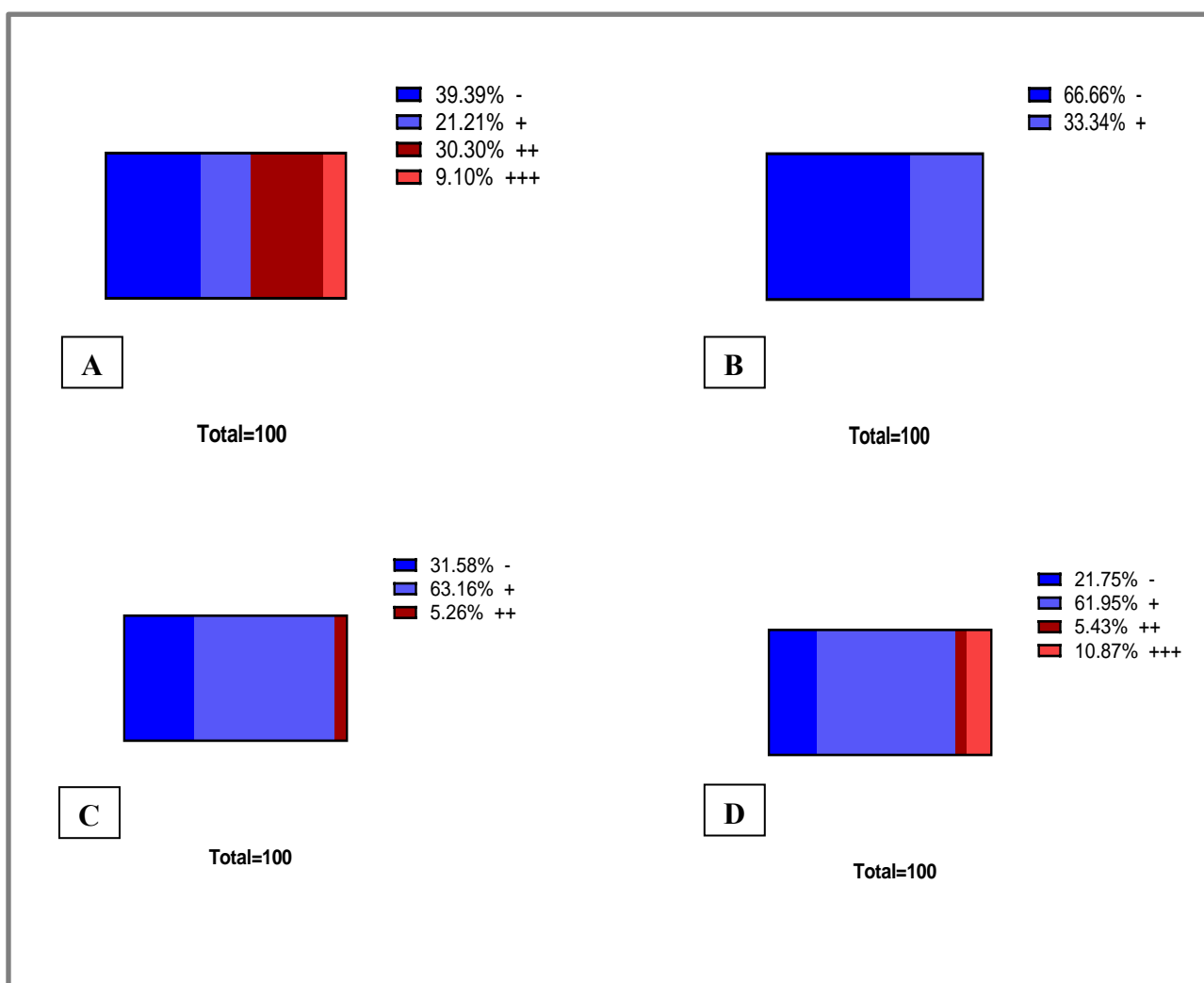


Figure n°10 : Activité protéolytique des BL isolées, **A** : Par les membres du genre *Lactobacillus*, **B** : Par les membres du genre *Pediococcus*, **C** : Par les membres du genre *Enterococcus* et **D** : Par les membres du genre *Lactococcus*

Dans la production des aliments fermentés tels que les fromages et les yaourts, la protéolyse joue un rôle clé dans la formation d'arômes et de saveurs uniques de divers types. Cependant, une protéolyse élevée n'est pas toujours recommandée car elle pourrait produire une quantité excessive d'amères ou de résidus indésirables (**Perin et al., 2017**). La **Figure n°10** et le **Tableau n°05** illustrent la production modérée de protéase par nos isolats des

Résultats et Discussion

genres *Pediococcus* et *Enterococcus* qui peuvent être dans ce cas les starters lactiques de choix.

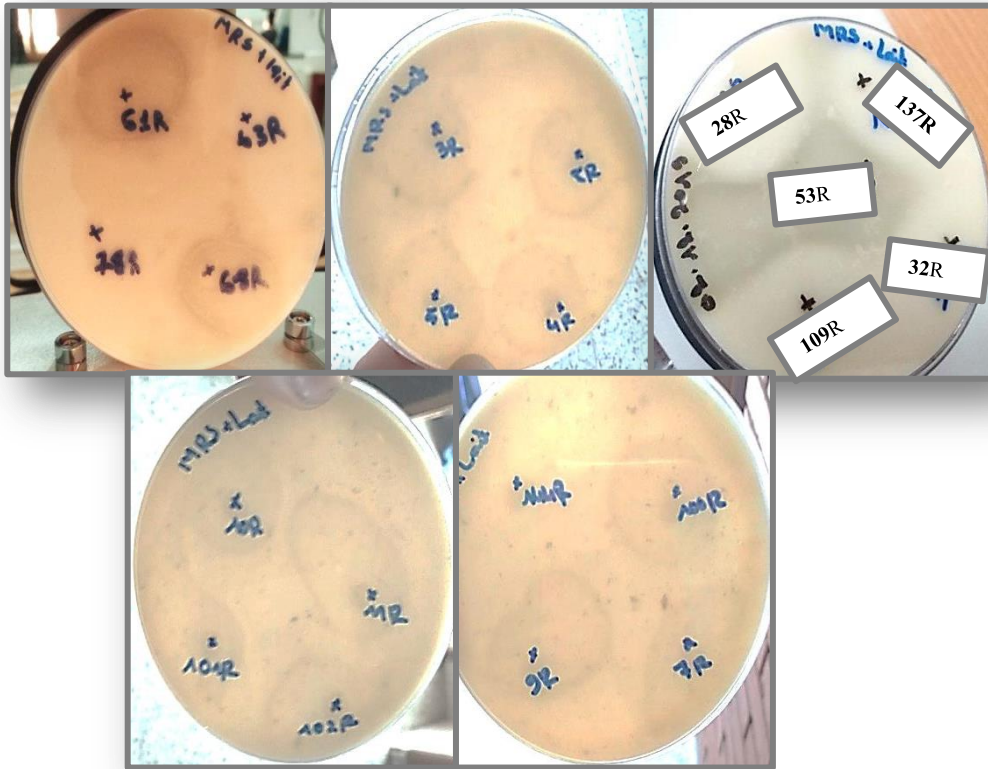


Figure n°11 : Activité protéolytique de quelques isolats lactiques sur milieu MRS au lait écrémé.

Pour les cultures starter, la sélection était basée sur les performances de fermentation ainsi que sur les caractéristiques recherchées du produit final où la protéolyse est considérée comme l'événement biochimique le plus important (**Fusieger et al., 2020**), les recherches de **Kumar et al., (2017)** sur l'activité protéolytique d'une collection de souches lactiques isolées de cornichons traditionnels des zones rurales et urbaines de l'Inde, conduisent à constater que deux souches d'*En. faecalis* PKL-3 et *En. faecalis* PKL-24 sont caractérisées par une activité protéolytique intéressante. **Karyantina et al., (2020)** ont démontré que toutes les BL testées isolées des échantillons de poissons fermentés ont la capacité de produire des zones claires autour des colonies grâce à leur activité de protéolyse surtout par l'espèce *P. pentosaceus*.

En raison de leur activité de dégradation, les enzymes protéolytiques sont capables de produire des peptides bioactifs ayant une activité antagoniste contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ce qui en fait une source d'agents antimicrobiens (**Zanutto-Elgui et al., 2019**).

Résultats et Discussion

Les différents profils de l'activité protéolytique des quatre types de BL étudiées s'expliquent par leur contrôle génétique du système protéolytique. **Liu et al., (2010)**, ont mentionné que les protéinases sont liées à la paroi cellulaire de 22 souches lactiques réparties parmi les *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus* et *Leuconostoc*, ils ont également révélé qu'il existe des différences dans la nature des diverses superfamilles de protéines ainsi que dans leur distribution. La nature de cluster codant pour le système protéolytique détermine non seulement l'intervariabilité mais aussi l'environnement privilégié pour l'action de chaque enzyme, à titre d'exemple, la protéinase d'*Enterococcus* sp. secrète des peptides bioactifs notamment à partir des protéines de lactosérum qui favorise leur croissance optimale (**Kieliszek et al., 2021**).

Tableau n° 05 : Activités protéolytique, aromatique et production d'exopolysaccharide par les 21 souches sélectionnées

Souches	Activité Protéolytique	Production d'exopolysaccharide	Pouvoir aromatique
LbK126	+	++	++
LbJ19	+	++	++
LbK101	+	++	+++
LbD108	+	++	+++
LbJ1	+++	++	+
LbD29	-	+	+
LbJ14	+	+	++
LbJ7	+	+	+++
LbB123	-	++	-
LbZ124	++	++	-
PeJ138	+	+	++
EnJ65	-	++	++
EnJ70	+	++	++
EnB100	++	+	-
EnK104	+	+	+
EnK105	-	+	++
EnK107	+	++	++
EnD119	+	+	+++
LcJ26	+++	+	++
LcJ45	+++	++	++
LcD135	+++	++	+++

L'activité protéolytique: zone d'activité exprimée en (- =8 mm ; 10> + >13 mm ; 13> ++ >16 mm; 16> +++ >20 mm)

L'activité polysaccharidique: (-absence de culture; + présence de culture; ++ culture avec colonies gluantes).

L'activité aromatisant: négatifs (-), faibles (+), moyens (++) ou forts (+++) selon l'intensité de la couleur.

3. Activité Lipolytique

L'une des principales activités biochimiques réalisées par les BL lors de processus de fermentation est la dégradation de la matière grasse du lait par l'action des enzymes lipolytiques. Cette activité lipasique conduit à la libération des alcools et des acides gras libres contribuant efficacement à la saveur des produits finis (Chen et al., 2017). L'activité lipolytique des isolats lactiques a été déterminée dans un milieu MRS additionné d'une source lipidique naturelle et artificielle, avec des concentrations différentes (1%, 3% et 5%). D'après les résultats illustrés dans la **Figure n°12**, les souches lactiques se sont montrées capables d'utiliser l'huile d'olive comme source lipidique naturelle. Les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Pediococcus*, à l'exception des *Enterococcus*, se caractérisent par des niveaux d'activité avec une variabilité significative ($p < 0,05$) notamment entre les deux facteurs (source naturelle et artificielle). Cette observation peut s'expliquer par le fait que les lipases sont de types inductibles, préfèrent la dégradation des acides gras monoinsaturés à longue chaîne tel l'acide oléique, qui constitue 78 % de l'huile d'olive (Dellali et al., 2020).

Dinçer et Kivanç (2018) ont étudié l'activité lipolytique de 50 souches de BL isolées de Pastirma Turque et ont observé que parmi les isolats testés 20 souches de *Lb. plantarum* avaient montré une activité lipolytique hautement élevée. Dans le présent travail, l'activité lipolytique la plus élevée a été enregistré respectivement par les genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*. De façon générale, les isolats du genre *Lactobacillus* ont dégradés l'huile d'olive ajoutée concentration de 3 %, certaines souches ont montré des niveaux d'activité presque comparables aux différentes doses, comme c'est le cas pour les souches LbJ19, LbK101 et LbZ124 (**Figure n°13**). Ceci est similaire aux résultats de Guan et al., (2020) qui ont révélé que les souches "*Lb. casei f1*, *Lb. paracasei f2* et *L.b paracasei f3*" ont montré une bonne activité lipolytique lorsque l'huile d'olive était utilisée comme substrat. La même étude a illustré l'activité Lipasique positive des membres du genre *Pediococcus*. Ceci est également conforme à nos résultats, qui montrent que les membres du genre *Pediococcus* (**Figure n°12, n°13**) ont une activité lipasique attirante.

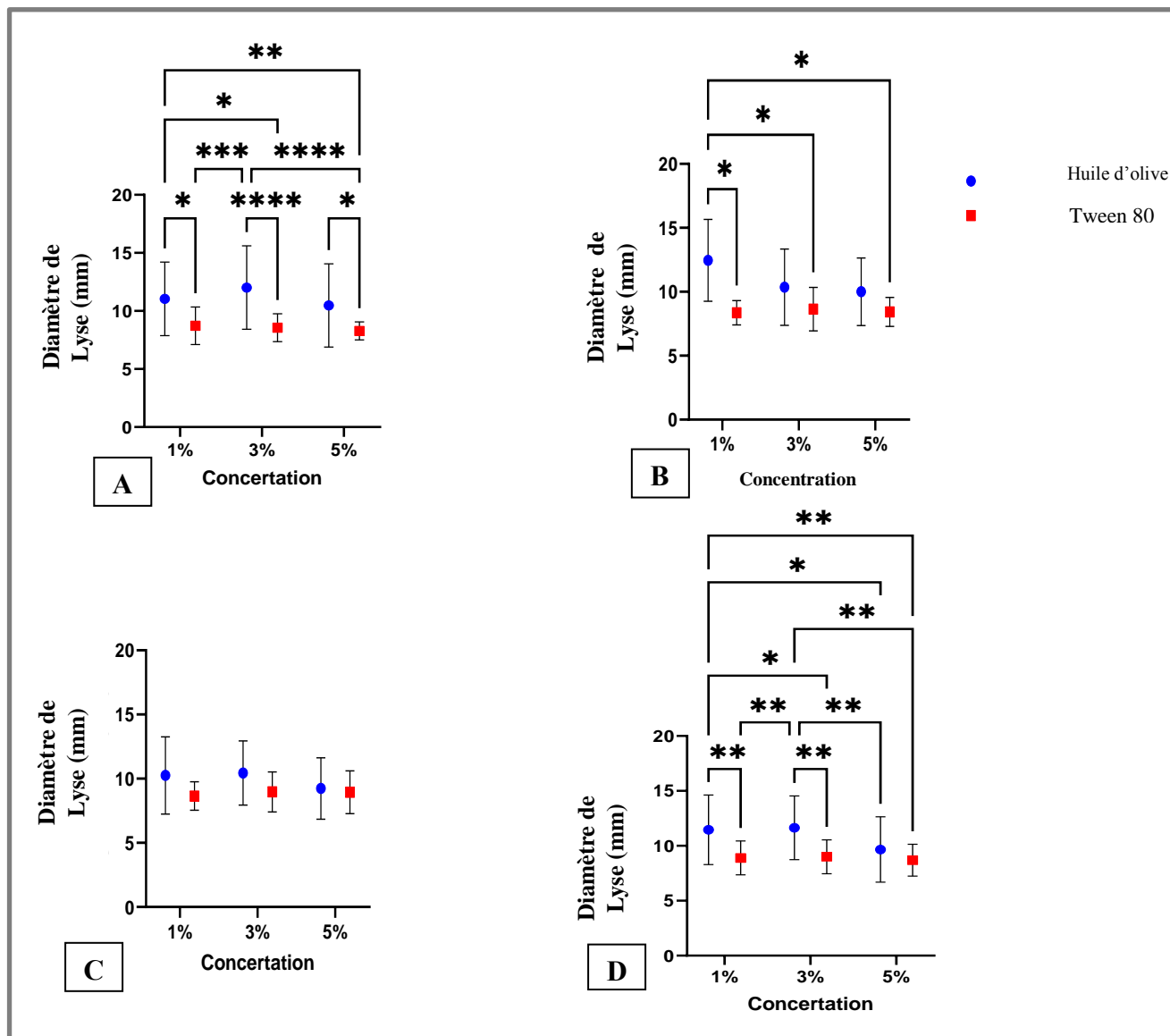


Figure n°12 : Activité Lipolytique des BL isolées, **A** : Par les membres du genre *Lactobacillus*, **B** : Par les membres du genre *Pediococcus*, **C** : Par les membres du genre *Enterococcus* et **D** : Par les membres du genre *Lactococcus*

Selon **Dhaisne et al., (2013)**, les espèces appartenant au genre *Lactococcus* peuvent produire des composés chimiques volatils à partir de la dégradation des matières grasses du lait. D'après nos résultats, les isolats LcJ26, LcJ45 et LcD135 sont trois exemples de souches de *Lactococcus* qui ont données des zones d'activité allant de 19 à 10 mm sur l'huile d'olive et le tween 80 (**Figure n°14**). Cependant nous avons constaté que les isolats du genre *Enterococcus* montrent une activité lipolytique réduite sur l'huile d'olive ou le tween 80. Selon nos résultats, seuls 20,31% des entérocoques examinés (64 souches) avaient une

Résultats et Discussion

activité lipolytique positive, selon une étude d'**Anagnostopoulos et al., (2018)**. Dans l'étude de **Ribeiro et al., (2014)**, seuls deux isolats d'entérocoques, L3A21M3 et L3B1K3, ont montré une activité lipolytique .

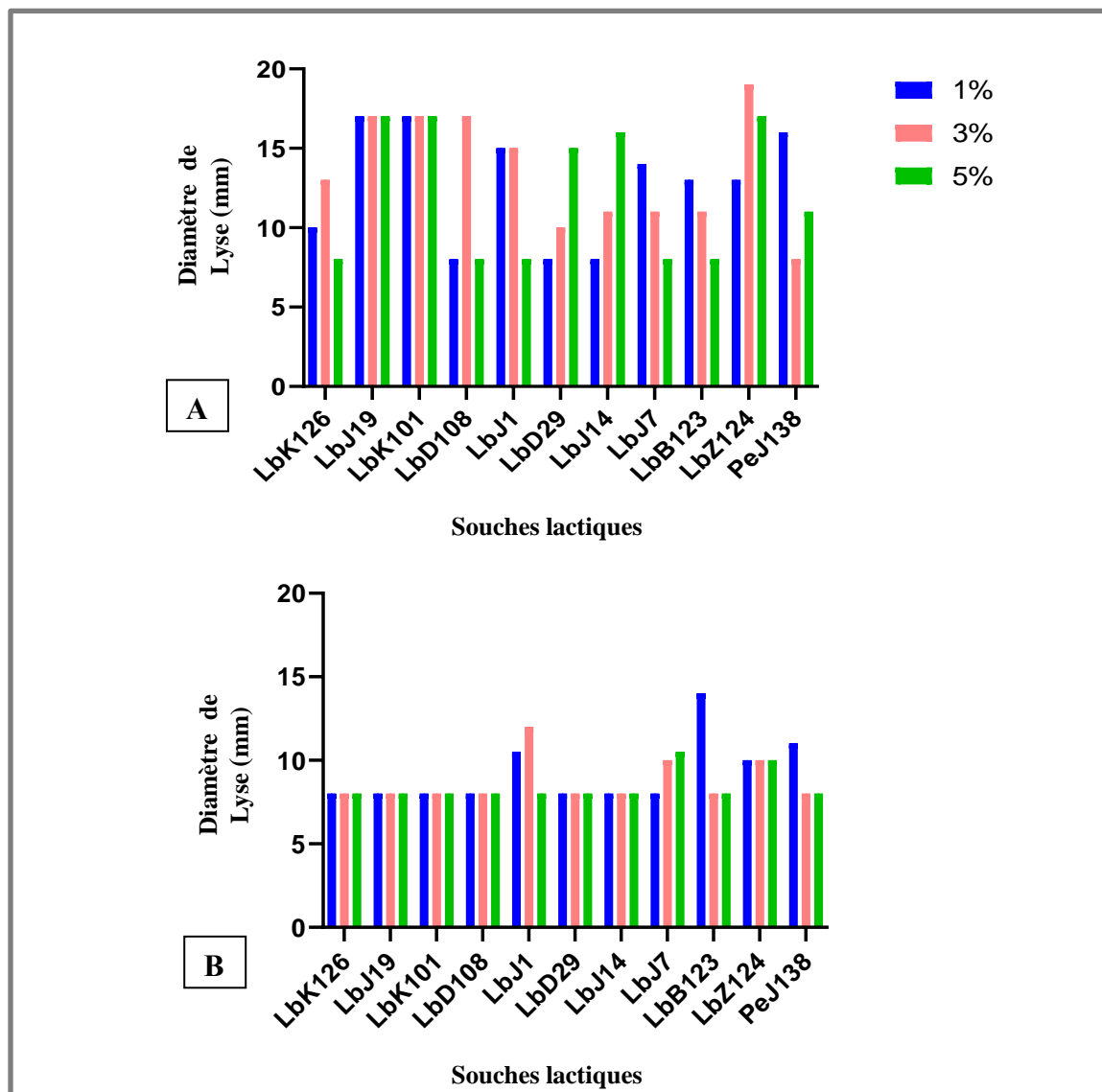


Figure n°13 : Activité lipolytique des souches sélectionnées du genre *Lactobacillus* (LbK126, LbZ124, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124) et *Pediococcus* (PeJ138). **A :** avec la source lipidique naturelle "Huile d'olive" **B :** avec la source lipidique artificielle "Tween 80"

Selon **Sharma et al., (2001)** la période d'incubation pour détecter l'activité était un facteur limitant, car la destruction par exemple de l'huile d'olive augmentait considérablement pendant la phase stationnaire. Dans le travail actuel, 2-4 jours était la période recommandée pour l'apparition de zones claires indiquant une activité positive.

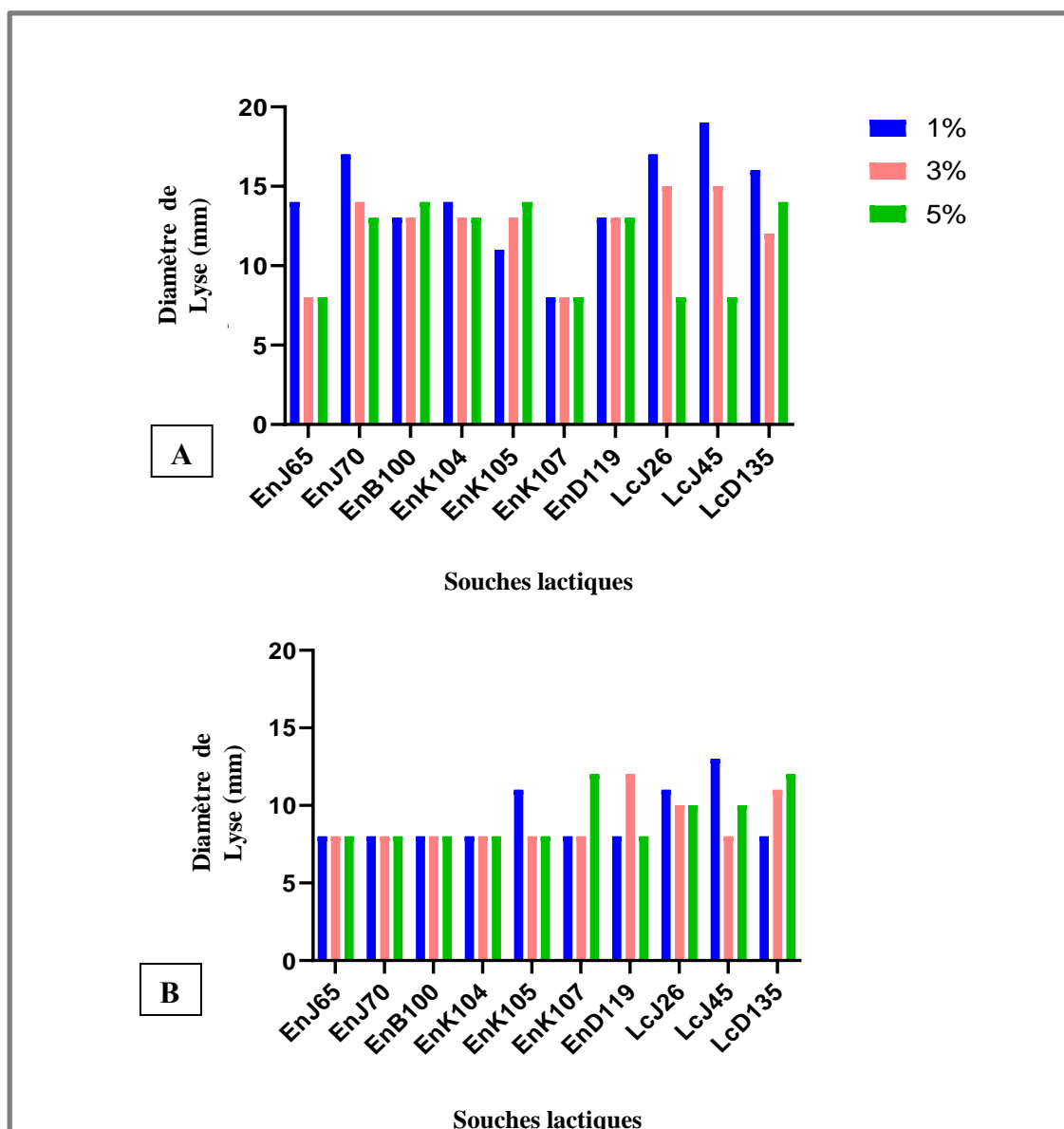


Figure n°14 : Activité Lipolytique des souches sélectionnées du genre *Enterococcus* (EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119) et *Lactococcus* (LcJ26, LcJ45 et LcD135). **A :** substrat lipidique naturel "Huile d'olive" **B :** substrat lipidique artificiel "Tween 80"

L'analyse des résultats nous a permis de conclure que la plupart des BL examinées n'utilisaient pas de tween 80. ce résultat pourrait être expliqué par les travaux de **Dellali et al., (2020)**, qui ont constaté que l'activité lipasique des BL testée sur le tween 80 comme substrat était faible avec toutes les concentrations utilisées. Cela pourrait s'expliquer par le fait que, bien que les BL soient plus aptes à dégrader les lipides simples de Tween 80 dans ce cas, la plupart n'ont que des estérases intracellulaires, de sorte qu'elles ne peuvent pas hydrolyser

Résultats et Discussion

les lipides alimentaires tant qu'elles n'ont pas été libérées des cellules lysées (Chen *et al.*, 2017).

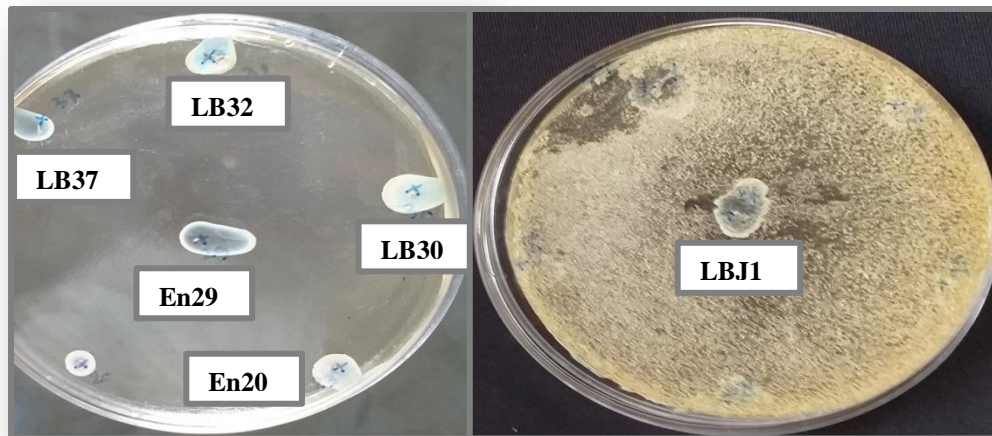


Figure n° 15 : Activité lipolytique de quelques BL isolées avec comme source lipidique artificielle le Tween 80.

Plusieurs études ont indiqué que les BL sont classées comme un groupe de micro-organismes faiblement lipolytiques par rapport aux champignons ou *Bacillus* spp. et *Pseudomonas* spp. les micro-organismes, qui sont les principales sources de lipase industrielle Guan *et al.*, (2020).

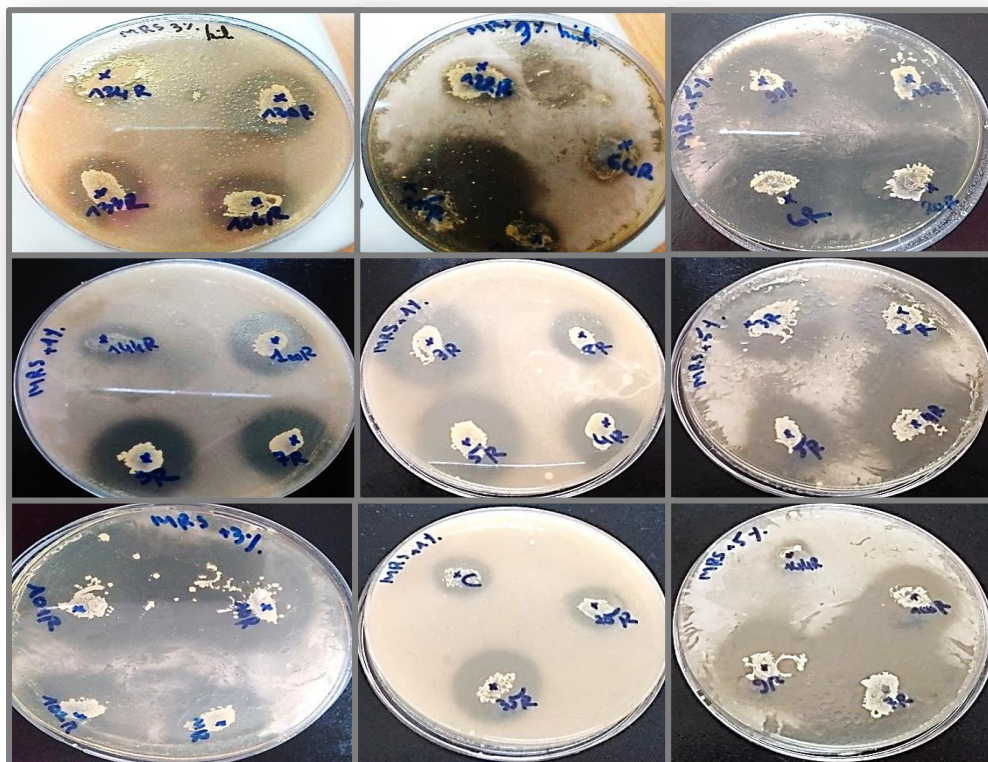


Figure n° 16 : Activité lipolytique de quelques BL isolées avec comme source lipidique naturelle l'huile d'olive

4. Activité texturant

Plusieurs études ont démontré que les exopolysaccharides (EPS) sécrétés par les BL peuvent être utilisés dans une variété de produits alimentaires (**Freitas et al., 2017**). Les bactéries lactiques augmentent la viscosité des aliments en générant et en sécrétant des polymères saccharidiques in situ ; en raison de leur solubilité, ces polymères peuvent également être utilisés pour améliorer la stabilité des produits alimentaires (**Silva et al., 2019**).

L'ensemble des résultats l'activité exopolysaccharique de nos isolats est illustré dans le **Tableau n°05** et la **Figure n°17**. Dans l'ensemble, la plupart des isolats sont capables de se développer sur un milieu hypersaccharosé en formant des colonies à aspect plus ou moins gluant témoignant une production d'un agent épaississant. Toutefois nous avons noté que 62,15 % des souches appartenant au genre *Lactobacillus* sont productrices d'EPS, suivi de celles appartenant au genre d'*Lactococcus* (26,85 %) puis souches du genre d'*Enterococcus* et 23,80 %. Cependant nous avons constaté que les membres du genre *Pediococcus* sont incapables de produire d'ESP malgré qu'elles se développent bien sur le milieu hypersaccharosé. En désaccord avec nos résultats, **Van der Meulen et al., (2007)** ont rapporté que seulement 10 souches lactiques sur un total de 174 produisent des EPS. En revanche, la capacité puissante de *Lactobacillus* et *Lactococcus* à produire des EPS a été démontrée dans diverses recherches, notamment **Pan et al., (2010)** ; **Wang et al., (2014)** ; **Jeong et al., (2017)**; **Neha et al., (2019)**. D'après ces auteurs, la production des EPS par les bactéries lactiques est l'élément clef dans de nombreux processus industriels alimentaires. Toutefois, le principal intérêt de l'utilisation de bactéries lactiques productrices d'EPS lors de la production de laits fermentés est l'amélioration de la texture et la diminution de la synérèse (**Sanalibaba et Çakmak, 2016**).

La **Figure n°18** illustre quelque exemple de pouvoir texturant de quelques isolats lactiques.

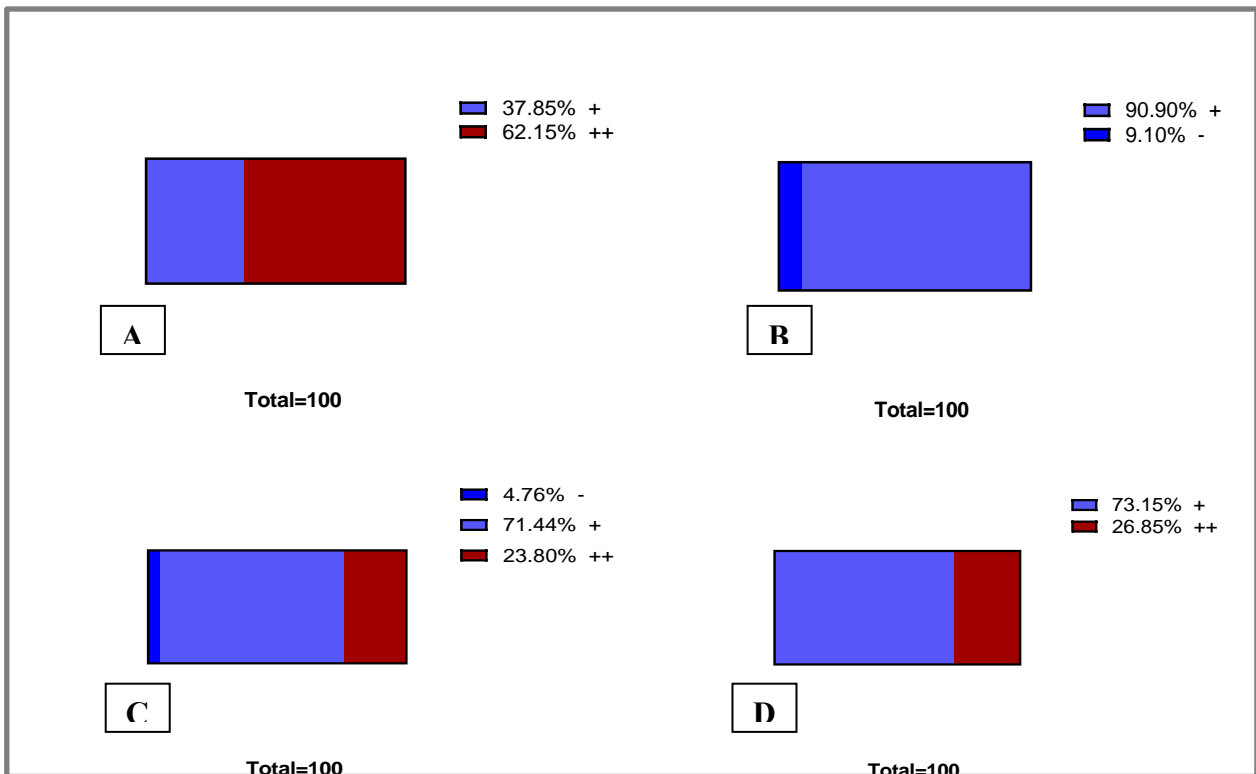


Figure n°17 : Production des Exopolysaccharides par les BL isolées, **A :** Par les membres du genre *Lactobacillus*, **B :** Par les membres du genre *Pediococcus*, **C :** Par les membres du genre *Enterococcus* et **D :** Par les membres du genre *Lactococcus*

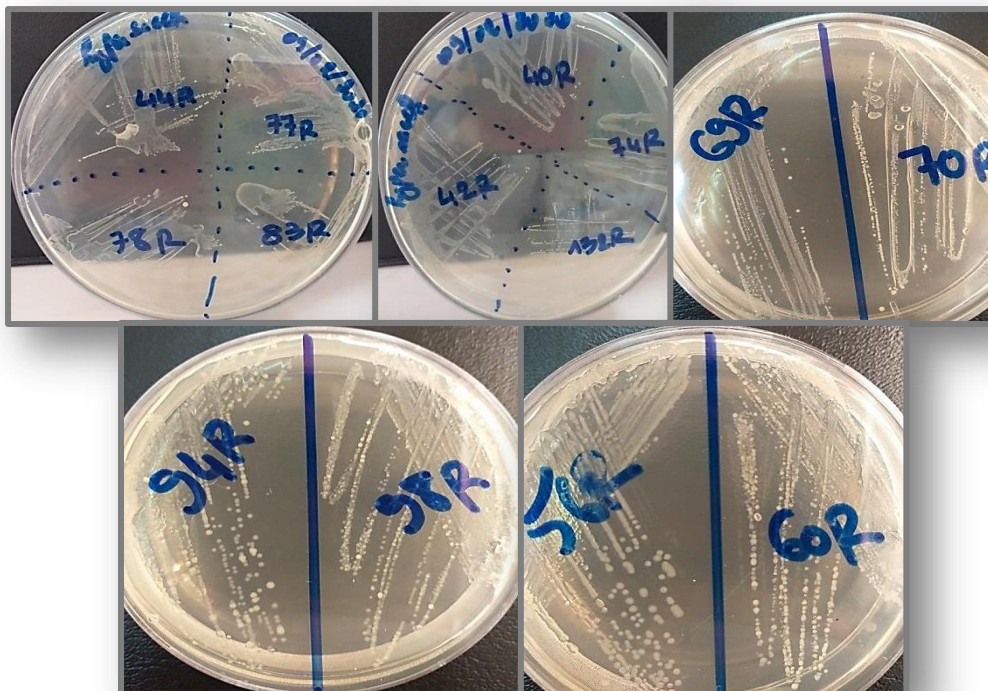


Figure n° 18 : Production des Exopolysaccharides par quelques souches de BL isolées

5. Activité aromatisant

Les métabolites aromatiques produits par les BL comprennent l'acétaldéhyde, l'acétoïne et le diacétyle. Le diacétyle a été trouvé à l'origine en petites quantités dans certains aliments, comme le café, et se distingue par sa saveur de beurre, qui le qualifie d'additif alimentaire dans une variété d'aliments, y compris les produits laitiers fermentés (beurre, margarine et fromage) (Hernandez-Valdes et al., 2020 ; Albayrak et Duran, 2021). Les BL synthétisent du diacétyle à partir du lactose et de l'acide citrique, les principales sources de carbone dans le lait, après avoir les converties en pyruvate puis en acétyl-CoA via plusieurs voies métaboliques (Makhlouf, 2006). La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface d'une culture lactique sur milieu lait écrémé (Figure n°19).

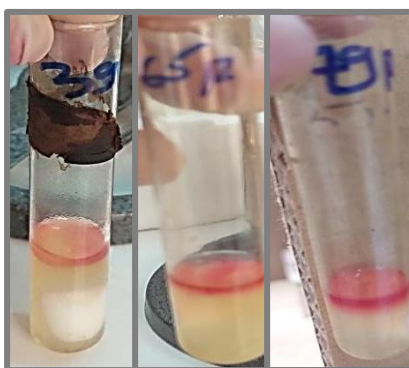


Figure n° 19 : Activité aromatique de quelques BL isolées

Sur les 175 souches testées, 85,15 % ont été classées comme productrices d'arômes, avec des niveaux de production déférents (Tableau n°05). Les 85.15% de BL présentant une activité aromatique positive étaient respectivement : *Lactococcus* (45.72%), *Lactobacillus* (22.85%), *Enterococcus* (10,29%) et *Pediococcus* (6,29%). Plusieurs recherches antérieures ont démontré que les membres du genre *Lactococcus* peuvent produire du diacétyle. Dans une étude de Garca-Quintáns et al., (2008), trois souches de *Lc. lactis* subsp.*lactis* biovar *diacetylactis* désignées comme C17, CRL264 et IPLA838 peuvent produire une quantité considérable d'acétoïne et de diacétyle par conversion de l'intermédiaire 2-acétolactate. De nombreuses études publiées ont également démontré la capacité de diverses espèces de *Lactobacillus* à générer du diacétyle, notamment *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. brevis* et *Lb. casei* Phalakornkule et Tanasupawat (2006) ; Pan et al., (2014) ; Abouloifa et al., (2020). Skie et al., (2008), ont montré que même via une voie métabolique unique à travers la conversion de l'acide aminé Aspartate, la souche de *Lb. plantarum* INF15D peut produire du diacétyle.

Selon le **Tableau n° 05**, les souches appartenant au genre *Enterococcus* codées ; ENJ65, ENJ70, EnK105, ENK107 et EnD119 semblent être les meilleurs productrices d'arôme.

III.Potentiel Probiotiques des BL isolées

1. Résistance à l'acidité

Étant donné que les bactéries probiotiques doivent traverser l'environnement stressant de l'estomac pour atteindre l'intestin grêle, la croissance et la survie dans un environnement acide sont des caractéristiques nécessaires pour offrir des effets thérapeutiques (**Afrin et al., 2021**). La croissance et la tolérance des BL à pH 1, 2 et 3 pendant 3 H ont été étudiées, les résultats sont illustrés dans les **Figures n°20, n°21 et n°22**. Les isolats appartenant aux quatre genres étudiés ont montré des taux élevés de survie qui sont d'une variabilité non significative ($p>0,05$).

D'après les résultats présentées sur les **Figures**, les genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* présentant la stabilité la plus élevée dans le pH hostile, ces deux genres ont été adaptés pratiquement à l'identique au cours des trois heures de test aux trois valeurs de pH étudiés. Après 2 heures d'incubation à pH 3, les souches de *Lactobacillus* avaient un taux de survie de 83,39 à 90,22 % et de 70,01 à 89,60 % après 3 heures d'incubation. Le taux de survie à pH 2 varie entre 81,12 à 88,93 % après 2 heures et 74,34 à 88,10 % après 3 heures d'incubation, tandis qu'à pH 1 le taux de survie était de 66,67 à 89,47 % après 2 heures et 77,26 à 92,3% après 3 heures. La souche LbJ1 était la souche la plus résistante. Selon des travaux précédents, **Maragkoudakis et al., (2006)** ont trouvé que 29 souches de *Lactobacillus* isolées de produits laitiers étaient résistantes au pH acide 3, alors que seules quelques souches étaient résistantes au pH 1. Les phénomènes d'induction de l'activité H⁺-ATPase ont été décrits et expliqués par le phénomène de la résistance dans la même étude. Dans une étude similaire, **Oudah et al., (2019)** ont rapporté que la souche de *Lb. rhamnosus* codée comme MPS-16 peut survivre dans un milieu dont pH (2-3). Les sept lactobacilles sélectionnés parmi une collection de souches lactique isolées du lait maternel de femmes âgées de 25 à 34 ans montraient une résistance élevée aux pH 2 et 3, avec des taux de survie allant de 80 à 90 % (**Rajoka et al., 2017**). Dans une récente étude réalisée sur des BL isolées des produits fermentés de la région d'Addis-Abeba, le taux de survie des souches dans un pH acide était supérieur aux valeurs rapporté dans plusieurs études précédentes, cette étude a également montré que les taux de survie globaux allant de 77 à 97 % dans les trois valeurs de pH testées avec des périodes d'incubation de 3 et 6 heures. *Lactobacillus* était le groupe le plus tolérant, avec quatre souches représentatives et un taux de survie de 94 % à pH 3 et de 89 % à pH 2, suivi de 88 %

Résultats et Discussion

indiqué par deux isolats de *Lactococcus* désignés K14 et S9 aux deux valeurs de pH (Akalu et al., 2017). Contrairement à nos résultats, qui montrent que les membres du genre *Lactococcus* ont un potentiel élevé de résistance aux pH acides, en particulier pour les trois souches représentatives, avec des taux de survie allant de 90,84 % à 82 %, (Faye et al., 2012 et Kazancgil et al., 2019) ont démontré dans leur étude que le genre *Lactococcus* semble être le genre le moins tolérant aux acides par rapport au genre *Lactobacillus*.

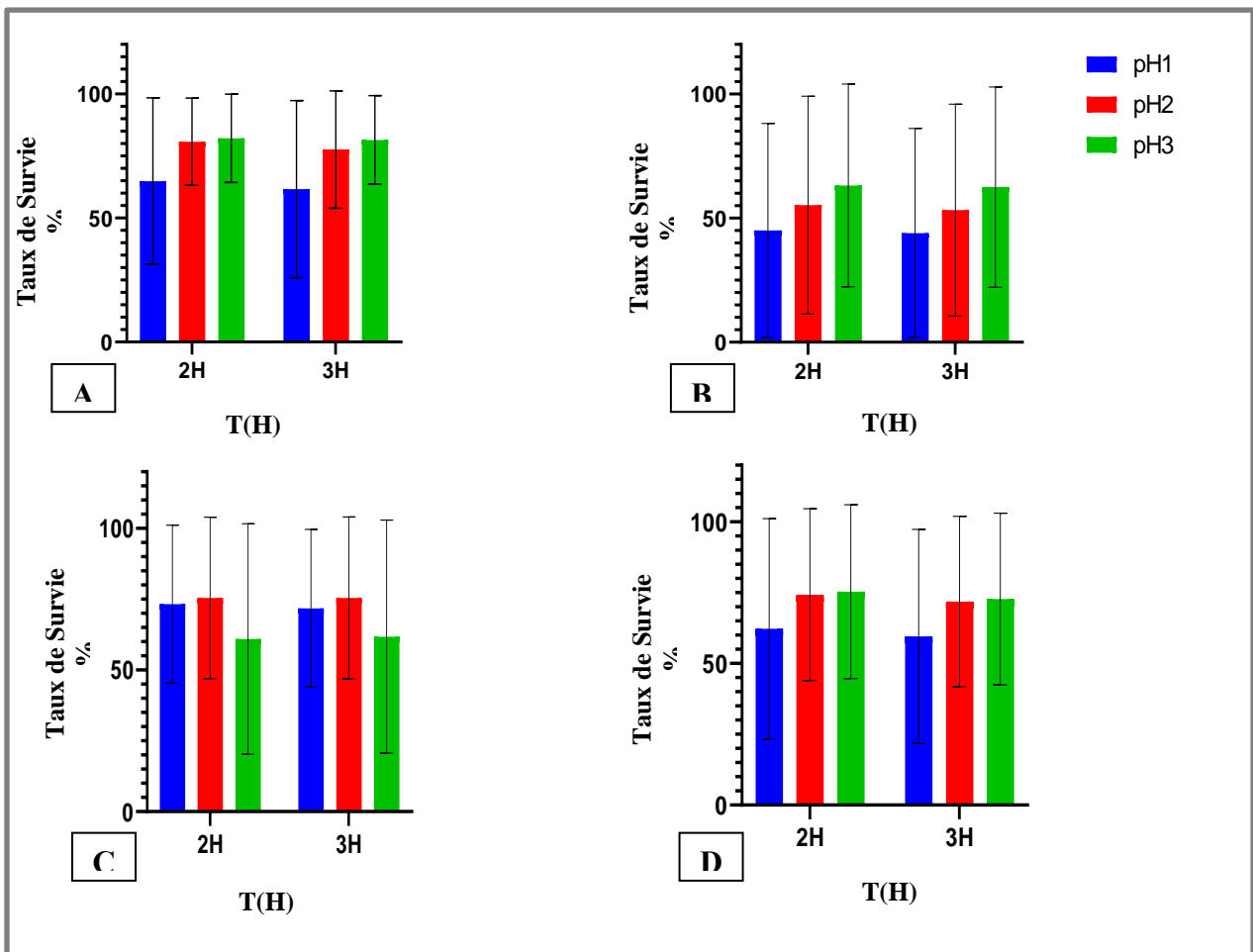


Figure n°20 : Résistance des souches lactiques aux milieux acides, **A** : Par les membres du genre *Lactobacillus*, **B** : Par les membres du genre *Pediococcus*, **C** : Par les membres du genre *Enterococcus* et **D** : Par les membres du genre *Lactococcus*

Selon les recherches de Gao et al., (2021), les *Lactococcus* et *Lactobacillus* résistent à l'environnement acide par le biais de divers d'une variété de processus, y compris la régulation du pH intracellulaire et extracellulaire à l'aide de protons libérés dans le cytoplasme suite à la dégradation d'acides comme l'acide lactique.

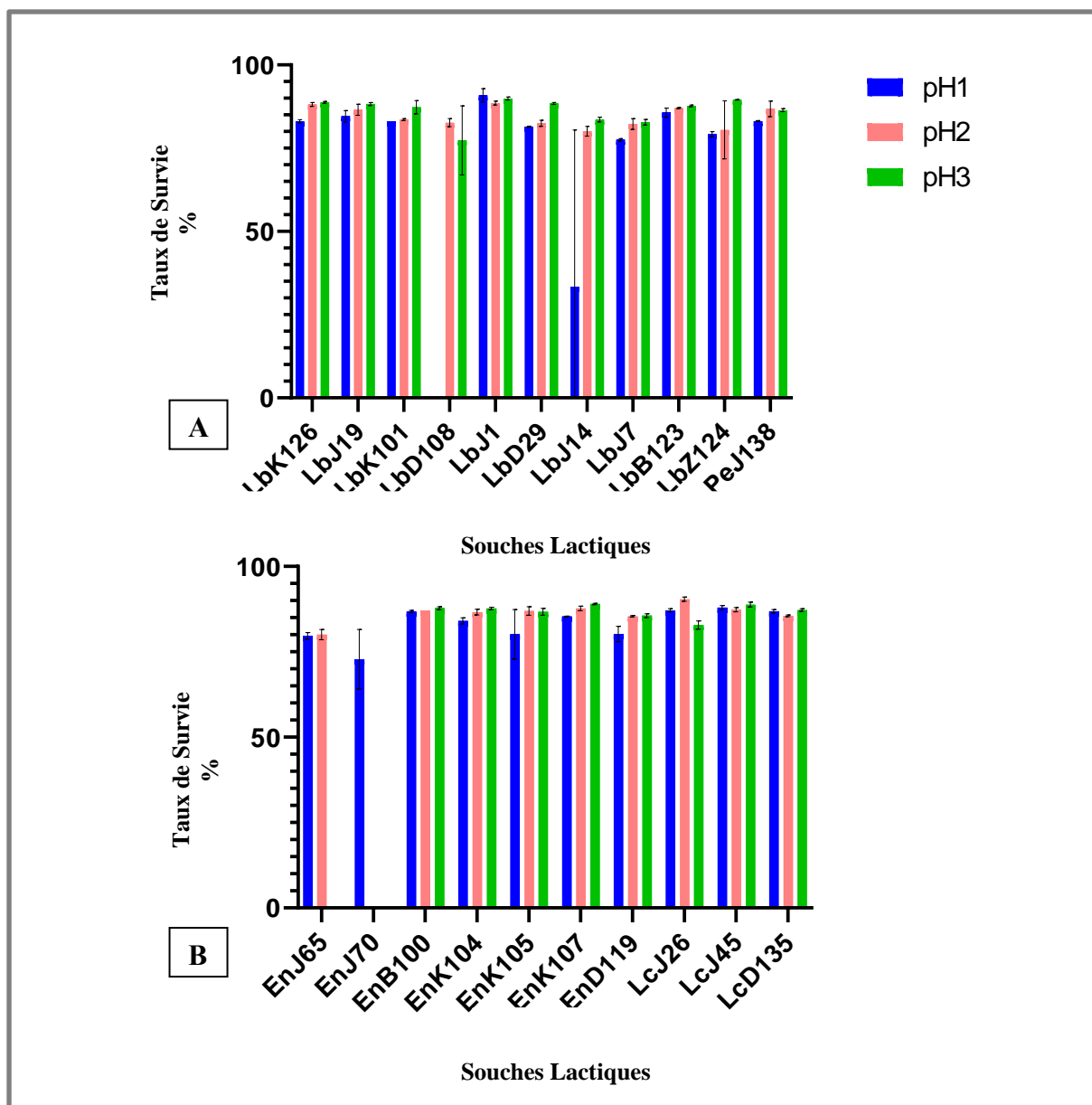


Figure n°21 : Résistance des souches lactiques sélectionnées aux milieux acides, **A** : par les souches du *Lactobacillus* et *Pediococcus* et **B** : par les souches du *Enterococcus* et *Lactococcus*

Conformément aux résultats, les *Enterococcus* ont démontré une tolérance exclusive, contrairement aux autres genres, où la majorité de ces membres ont résistés à pH1 avec des taux de survie élevés par rapport aux taux de survie à pH 2 et 3. Parmi les souches choisies EnJ70, en particulier, a résisté seulement à pH1 avec des taux de survie de 79% et 66,66% après 2 et 3 heures de test, respectivement, tandis que la souche EnJ65 a démontré une survie à pH1 et 2 avec des taux de survie allant de 79% à 81,12%, mais était de 0% à pH3. Une souche d'entérocoque codée comme "came 14" semble avoir le plus haut niveau de résistance

Résultats et Discussion

au pH2, selon **Sharma et al., (2021)**. Dans leur étude **Haghshenas et al., (2017)** ont examiné la résistance des souches lactiques isolées à un pH de 2,5, en se basant sur la littérature selon laquelle "les probiotiques doivent résister à un pH compris entre 2 et 3", et ont constaté que, contrairement à plusieurs études qui liaient la résistance aux lactobacilles, les souches d'*Enterococcus* ont montré la tolérance la plus élevée, avec un taux de survie de 82 %. Les résultats de la tolérance ont été expliqués par la structure bicouche de la membrane.

Dans des conditions acides, la membrane est la première barrière à être rompue, et elle perd ses caractéristiques physiologiques, notamment sa fluidité, entraînant la mort de la cellule bactérienne. Pour éviter un tel scénario, les BL améliorent la dureté et la densité de la membrane plasmique en modifiant la composition en acides gras comme première approche d'adaptation (**Gao et al., 2021**).

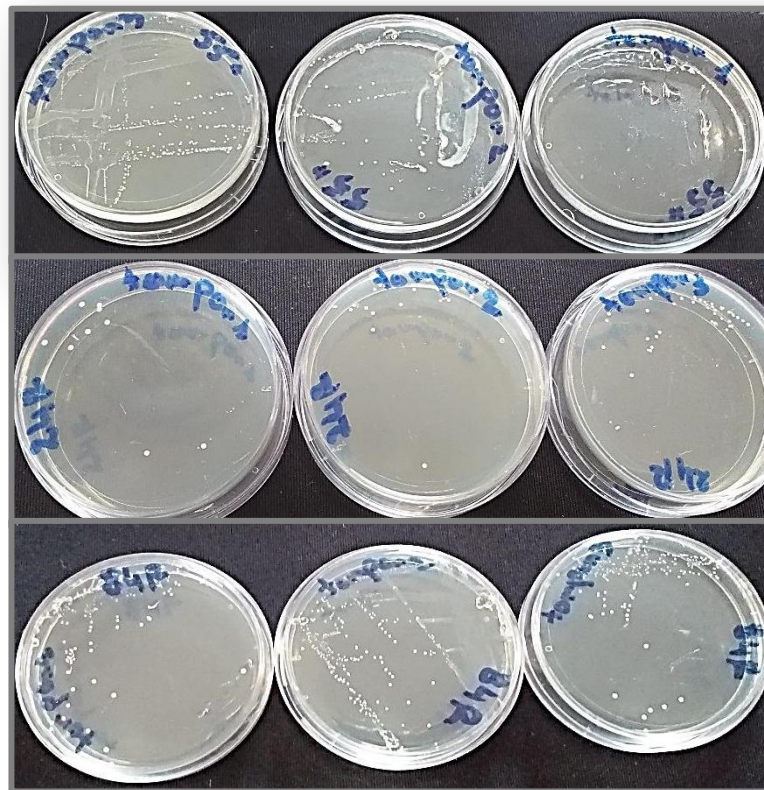


Figure n°22 : Résistance aux baisses pH par quelques BL isolées après 3 heures de test

Selon la littérature, le genre *Pediococcus*, en particulier les deux souches *P. pentosaceus* et *P. acidilactici*, sont résistants aux conditions d'acidité hostiles. **yang et al., (2020)**, ont montré que la totalité (90 %) des BL isolés d'une boisson à base de céréales en Corée, le « Gamju noir » ont montrés une capacité à tolérée dans des conditions d'acides hostiles où la souche *P. pentosaceus* a montré une taux de survivre de 100 %. Dans une récente étude **Dogan et al., (2021)** ont révélés que parmi une collection de 22 isolats de *Pediococcus*

appartenant aux *P. pentosaceus* et *P. acidilactici*, le taux de survie des souches dans un milieu acide était supérieure à 6 unité logarithmique.

2. Résistance à l'effet combiné de pH acides et de sels biliaries

La capacité de BL à résister à la combinaison bile (0,3 %) et pH acide (2,0, 2,5 et 6,5) après 4 heures d'incubation à 30 ° C est illustré dans les **Figures n°23, n°24 et n°25**. *Lactobacillus*, contrairement aux trois autres genres, a résisté à une activité biliaire excessive aux divers niveaux de pH avec de bons taux de survie et une variabilité non significative ($p>0,05$). Après 4 heures d'incubation à pH 2, 2,5 et 6,5, les souches représentatives de cette espèce ont résisté avec des niveaux minimums de 70,01, 83,07 et 87,23 %, respectivement. La capacité de différentes espèces de Lactobacilles à résister aux conditions stressantes de la bile a été étudiée par **Zheng et al., (2013)** ; **Reale et al., (2015)** et **Mermouri et al., (2017)**. Sur la base du fait que les concentrations de sels biliaries humains fluctuent entre 0,3 et 0,5 %, **Zheng et al., (2013)** ont étudié la capacité des souches de lactobacilles isolées à partir de grains de kéfir tibétain dans de telles conditions. Les résultats ont montré que toutes les souches de *Lactobacillus* pouvaient croître à une concentration de 0,3 % de la bile, à l'exception de trois souches, qui pouvaient croître à des concentrations supérieures à 0,5 %. **Reale et al., (2015)** ont découvert que trois isolats de *Lactobacillus* identifiée comme *Lb. casei*, *Lb. paracasei* et *Lb. rhamnosus*, ont présentés une forte résistance au stress biliaire. Selon **Mermouri et al., (2017)**, la plupart des lactobacilles isolés de produits artisanaux algériens ont montré une résistance élevée après avoir été inoculés avec de la bile bovine naturelle, mais en fonction de temps d'incubation, seulement trois souches codées (OV13, D006 et E522) ont tolérés 0,3 % de sels biliaries après 3 heures d'incubation, et leur tolérance a diminué après 24 heures de test.

Par rapport à nos résultats, les résultats de la résistance à la bile (0,3 %) - pH acide (2, 2,5 et 3) ont été révélés faibles dans l'article publié **Houssam et al., (2020)**, où les souches isolées de lactobacilles ont présentées une tolérance importante dans l'action bile (0,3 %) - pH (3) avec le taux de survie le plus élevé (83,19 %) illustré par la souche *Lb. plantarum* codée S72. Lorsque les mêmes souches ont été testées avec 0,3% de bile et pH 2,5, le taux de survie chute considérablement jusqu'à ce qu'il approche 65,20 % comme taux maximum et 0 % lorsque les souches sont testées avec 0,3 % de bile et pH 2. **Lee et al., (2016)** ont constatés que lorsqu'il était traité avec un pH acide de 3 et une concentration de bile de 0,3 %, *Lb. plantarum* C182 avait un taux de survie de 31,70 % et de 5,12 % lorsqu'elle était traitée avec la même concentration de bile et un pH de 2.

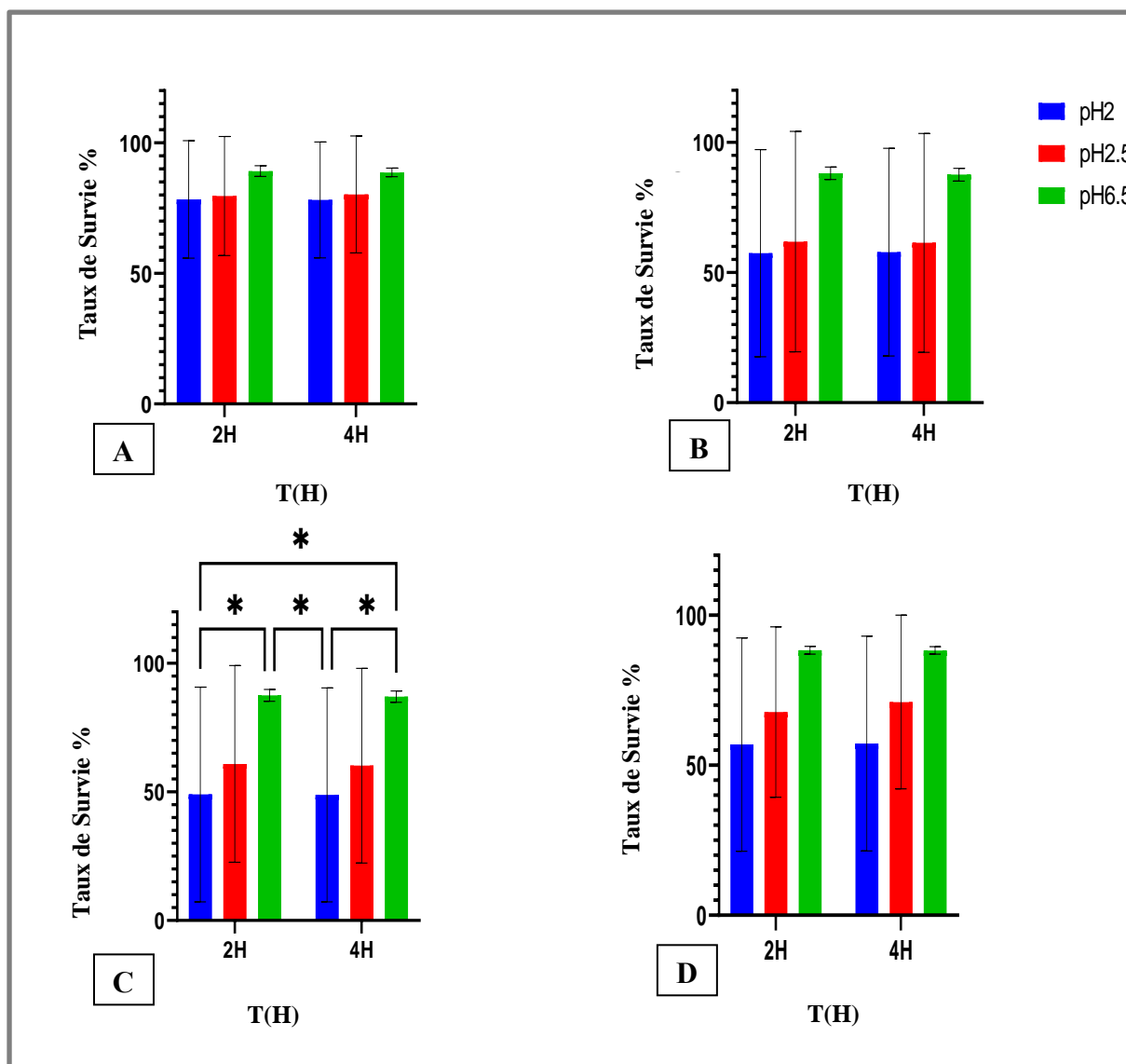


Figure n°23 : Résistance à la bile par les BL isolées, **A** : Par les membres du genre *Lactobacillus*, **B** : Par les membres du genre *Pediococcus*, **C** : Par les membres du genre *Enterococcus* et **D** : Par les membres du genre *Lactococcus*

A l'appui de ce fait, ces lactobacilles est le genre le plus résistant aux conditions de pH acide et de bile, les autres BL n'ont pas été sujet d'études visant à déterminer l'effet combiné de l'acide et de la bile. Notamment, plusieurs études se sont penchées sur la résistance de la plupart des BL à la bile. A titre d'exemple, **Jawan et al., (2021)** ont évalués la capacité d'une souche de *Lc. lactis* nommée de Gh1 à tolérer une teneur en bile de 0,3% et a donc montré sa capacité à vivre avec des taux varient entre 113 à 171%. Dans le concept, **Kondrotiene et al., (2020)** ont constaté que la plupart des souches de *Lactococcus* isolées du lait cru et fermenté

Résultats et Discussion

ont présentées une bonne résistance avec des taux de survie respectives de 96 à 91 %, 96 à 90 % et 93 à 82 % dans 0,3 %, 0,5 et 1 % de bile.

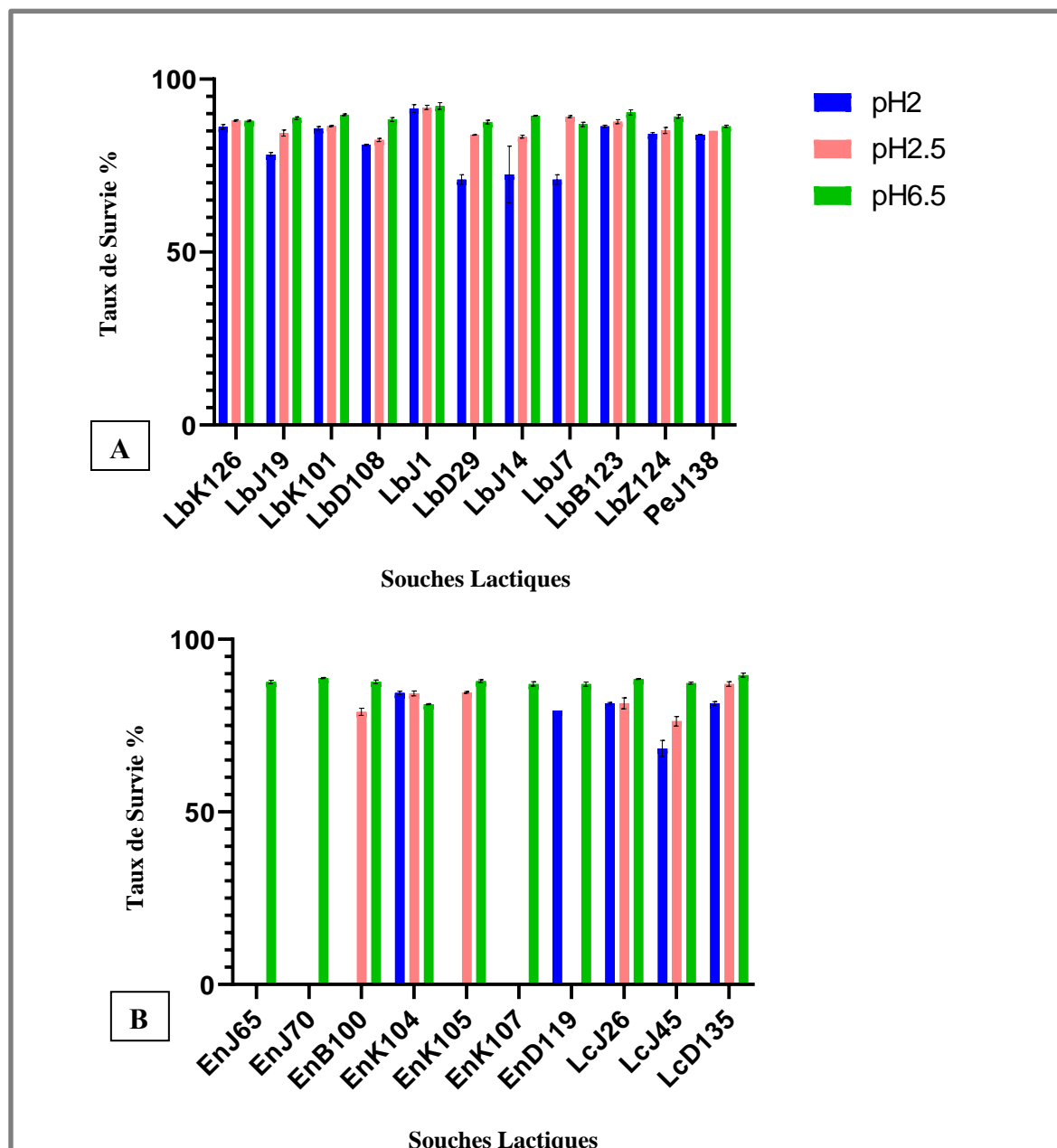


Figure n°24 : Résistance à la bile par 21 souches sélectionnées, **A** : du genre *Lactobacillus* et *Pediococcus* et **B** : du genre *Enterococcus* et *Lactococcus*

Dans une étude menée par **Banwo et al., (2013)**, les espèces du genre l'*Enterococcus* ont montré un taux de survie de 79,13 à 61,67 % dans des concentrations de sels biliaires de 0,3 et 1 %, respectivement. Seules les deux espèces de *Pediococcus*, *P. acidilactici* et *P. pentosaceus*, se sont montrés résistants à la bile. **Vasiee et al., (2020)**, dans leur étude, ont rapporté qu'une souche de *P. acidilactici* codée IAH-57.08 isolée des produits Iraniens

Résultats et Discussion

fermentés était résistante à la bile à 0,3 % après 3 heures d'incubation avec un taux de viabilité de $6,93 \times 10^5$ (log₁₀ CFU/ml).

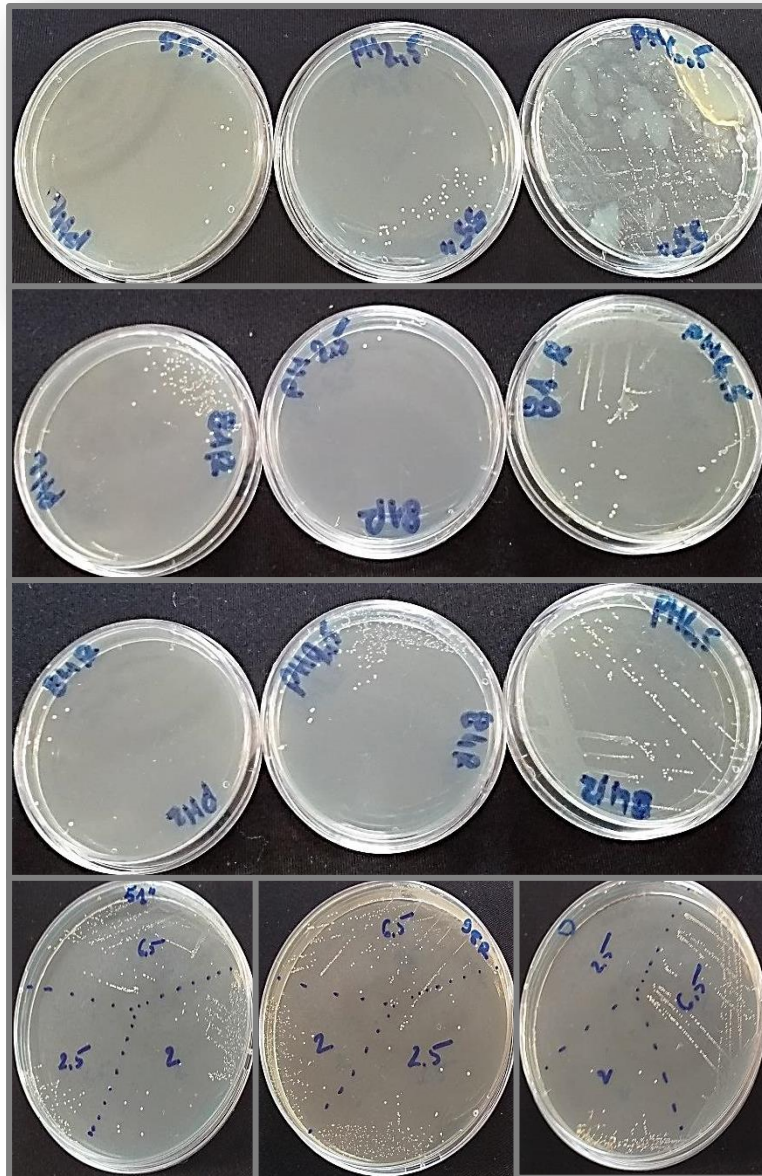


Figure n°25 : Résistance à la bile par quelques BL isolées après 4 heures de test

3. Adhésion *in vitro* aux cellules épithéliales

L'une des caractéristiques les plus importantes pour choisir d'éventuels probiotiques est leur capacité à s'adhérer et à coloniser le tractus gastro-intestinal, cela augmente la durée de contact intestinal et, par conséquent conduit à une colonisation des surfaces muqueuses, empêchant les bactéries pathogènes de se fixer. Comme l'étude de l'adhérence aux cellules épithéliales *in vivo* est difficile à réaliser, des modèles humains « Caco-2 and HT29 » et animaux (poulet) *in vitro* ont été utilisés (Li et al., 2015 ; Reuben et al., 2020 ; Garcia-

Gonzalez et al., 2021). La capacité d'adhésion *in vitro* aux cellules épithéliales de nos souches a été déterminée dans notre étude en utilisant des segments de duodénum et d'iléon de poulet.

Les résultats ont révélé que la capacité à s'adhérer à au moins 10 bactéries par cellule épithéliale, se variée selon le genre, cette capacité est estimée à 41,72 % pour les souches du genre *Lactococcus*, 18,28 % pour celles du genre *Lactobacillus*, 8,57 % pour les Enterocoques et ,43 % pour les *Pediocoques*. Les résultats du pouvoir d'adhésion sont illustrés dans la **Figure n°26**. Toutefois nous avons constaté que les souches *lactobacillus* LbD108, *Enterococcus* EnJ65 et *Lactococcus* LcJ45 sont marquées par une capacité d'adhésion maximale (**Tableau n°6**).

Selon **Mercier-Bonin et Chapot-Chartier (2017)**, les différentes espèces du genre *Lactococcus* ont la capacité à coloniser le tractus gastro-intestinal, notamment l'espèce *Lc. lactis* qui se présente un bon transporteur de molécules bioactifs en raison de sa capacité à adhérer aux cellules épithéliales. La capacité de cette espèce à se lier aux molécules glycoconjuguées dans le mucus intestinal était attribuée à des protéines de surface de la famille LPxTG codées notamment par des plasmides.

Contrairement au genre *Lactococcus*, les *Enterococcus* sont des habitants naturels du tractus gastro-intestinal. Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Zommiti et al., (2018)**, qui ont constaté que les souches d'entérocoques isolées de la viande traditionnelle (Ossban séché) ont montré une capacité d'adhésion aux cellules humaines de modèle Caco-2 / TC7 estimée à 21% .

Dans une étude récente conduite par **Idoui, (2014)**, quatre isolats de *Lb. fermentum* codées " LP3, LP10, LP11 et LP12 " ont démontrés la spécificité d'adhérer à l'épithélium intestinal. Cette adhésion est due aux interactions spécifiques et non spécifiques, telles que l'hydrophobicité et l'interaction entre les protéines membranaires des souches, et les parties glucidiques de la couche muqueuse du côlon. Toutefois, la source d'isolement des BL pourrait être un facteur déterminant pouvant influencer sur leur capacité à adhérer aux cellules épithéliales. **Reuben et al., (2020)** ont pu constater que les souches lactiques isolées du lait de vache cru avaient une capacité d'adhérence plus élevée après 90 minutes d'incubation, tout en diminuant l'adhérence des agents pathogènes. **Gu et al., (2008)** ont démontré la capacité de 17 des isolats lactiques provenant des selles de 567 personnes âgées à adhérer plus que la souche témoin *B. bifidium* BB12 (Chr. Hansen)aux cellules Caco-2 *in vitro*.

Tableau n° 06 : Adhésion *in vitro* aux cellules épithéliales des 21 souches sélectionnées

Souches	Adhésion <i>in vitro</i> aux cellules épithéliales
LbK126	+
LbJ19	+
LbK101	+
LbD108	+++
LbJ1	++
LbD29	++
LbJ14	+
LbJ7	+
LbB123	-
LbZ124	-
PeJ138	++
EnJ65	+++
EnJ70	+
EnB100	++
EnK104	+
EnK105	+
EnK107	+
EnD119	+
LcJ26	+
LcJ45	+++
LcD135	-

Absence d'adhésion (-), Adhésion modérée (+), Bonne (++) et Forte (+++).

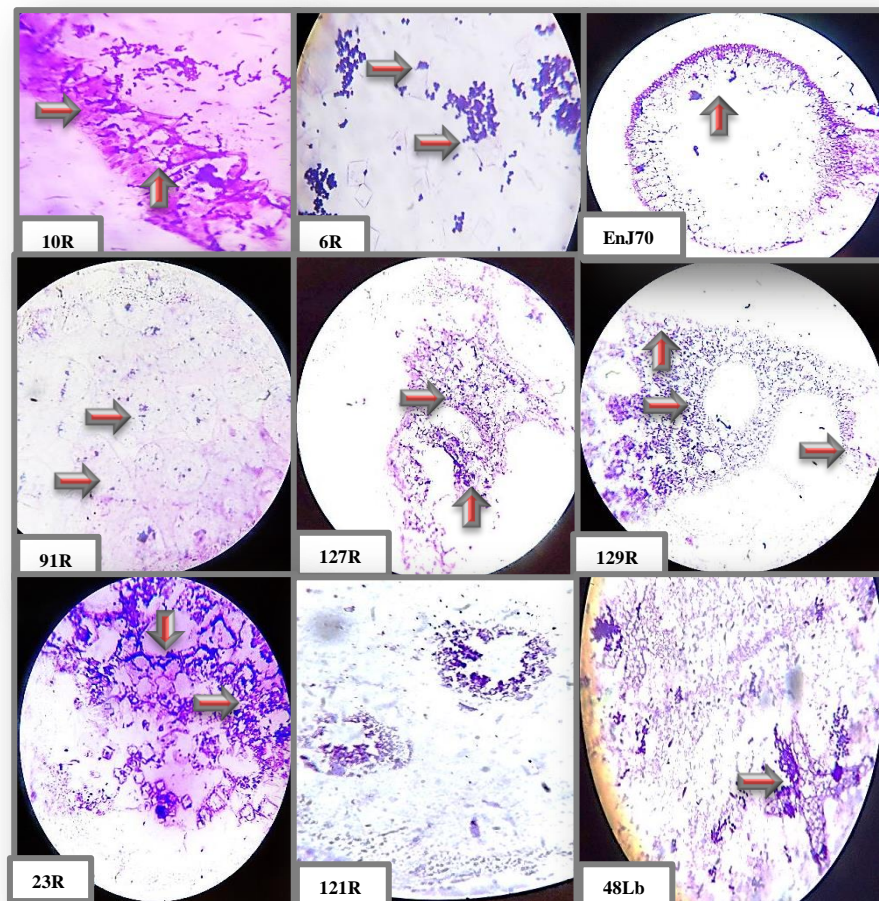


Figure n°26 : Adhésion *in vitro* aux cellules épithéliales par quelques BL isolées

4. Criblage de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de toutes les souches lactique isolées de produits laitiers préparés traditionnellement a été évaluée contre une variété de bactéries Gram positives et négatives, ainsi que des champignons. Les résultats sont illustrés dans les **Figures n°27, n°28** et **n°29**.

4.1. Activité antibactérienne

En utilisant la méthode de puits, les surnageant natifs de 75 des 175 souches lactiques récupérées avaient montré une activité antagoniste contre les bactéries indicatrices. Cependant, 21 souches ont montré une action significative (**Figure n°27**), avec des pourcentages d'inhibition allant de 50 à 94,44 %. La souche EnB100 est la plus remarquable par son activité antagoniste sur 17 des 18 souches indicatrices. De plus, nos isolats ont démontré une activité antibactérienne contre les bactéries entéro-pathogènes Gram-négatives et les bactéries d'altération et pathogènes Gram-positives.

Les BL se sont révélées actives contre les bactéries Gram + et Gram - dans diverses études. Le test de diffusion en puits a été utilisé par **Zuo et al., (2014)** pour évaluer le potentiel antibactérien d'une collection de BL. Les auteurs ont découvert que les BL des quatre genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Pediococcus* présentaient une activité inhibitrice contre au moins une des bactéries indicatrices Gram + "*Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* sp". avec les résultats donnés. Les zones d'inhibition diffèrent selon la bactérie étudiée. En revanche, les six BL obtenus dans l'étude de **Azat et al., (2016)** ont démontré une activité antibactérienne à large spectre contre les bactéries Gram + et Gram-, avec la plus grande zone d'inhibition contre *Escherichia coli* mesurant 6,3 à 10,5 mm de diamètre. Les scientifiques ont également montré que la souche *Lb. rhamnosus* R4 n'avait aucun effet contre les bactéries Gram + qui sont phylogéniquement liées à la souche testée dans la même étude.

Le spectre d'activité de la substance inhibitrice produite par nos souches englobe les genres bactériens Gram+ (*Listeria* et *Staphylococcus*). *L. monocytogenes* et *S. aureus* étaient les souches indicatrices les plus sensibles de SA neutralisées et générées par cinq BL sélectionnées à partir d'une collection de BL isolées du yaourt artisanal " Raib " selon (**Mechai et Kirane, 2008**). Les auteurs ont montrées que diverses recherches antérieures avaient renforcé l'action inhibitrice des BL, à savoir contre *L.monocytogenes*, avec des molécules qui étaient des «bactériocines » antibactériennes appropriées ou même d'autres

Résultats et Discussion

composés bioactifs. Selon **Kaya et Simsek (2019)**, le niveau initial de contamination dans différentes chaînes de production alimentaire influence le choix des souches des types *L. monocytogenes* et *S. aureus* comme indicatrices dans la recherche des BL ayant un effet antimicrobien pour garantir la sécurité alimentaire.

Dans notre étude, l'activité antimicrobienne des souches testées contre *S. aureus* SARM a été évaluée et les diamètres de zones d'inhibition contre cette bactérie variaient de 8 à 17 mm, les deux souches d'*Enterococcus*, EnB100 et EnK104 démontrant l'activité la plus élevée suivie par les souches appartenant au genre *Lactobacillus*. Ces résultats corroborent ceux de **Bhola et Bhadekar (2019)**, qui ont signalé une très bonne activité antimicrobienne des espèces de *Lb. reuteri*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum* et *Lc. lactis* dirigée contre les souches de SARM.

La bactériocine pourrait être responsable de l'action inhibitrice du SARM, par les souches d'entérocoques en se basant sur le fait que l'activité bactériocine des BL a déjà été identifiée comme étant des protéines antibactériennes hautement spécifiques actives principalement contre certaines souches de la même espèce ou des espèces apparentées à Gram positif, comme dans le cas de *Staphylococcus* et *Enterococcus* (**Hécharde et Sahl, 2002**). **Sui-skovi'c et al., (2010)** décrivaient les différents mécanismes utilisés par les BL pour assurer une activité antimicrobienne, ainsi que la manière dont ils ont été liés à la production de métabolites comme les bactériocines où la production de bactériocines est une capacité recherchée pour la sélection d'isolats lactiques afin d'éliminer les agents pathogènes.

Notre étude a révélé que les BL testées sont caractérisées par un pouvoir inhibiteur dirigé contre les bactéries Gram- et les souches multirésistances aux ATB. Le diamètre des zones inhibitrices varie entre 8 et 21 mm. Les souches EnK105, EnB100 et LbD108 ont exprimé un pouvoir antagoniste envers toutes les bactéries Gram-. La souche *Serratia marcescens* E18 était la plus sensible, suivie par la bactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu *Enterobacter cloacae* E22. La **Figure n°27** montre en outre que toutes les souches de *Lactococcus* et *Enterococcus* ont inhibé les souches indicatrices *Acinetobacter baumannii* Ab57 et Ab37, ainsi que *Enterobacter cloacae* En73, En53 et En22.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des souches lactiques testées contre les Gram- sont comparables à ceux de **Bragason et al., (2020)**, qui ont démontré l'activité des souches de *Lc. lactis* contre *Salmonella typhimurium* DT12, *Escherichia coli* O157: H7 VT-, et *Klebsiella pneumoniae*. Cependant, **Adeniyi et al., (2015)** ont rapporté que le surnageant

Résultats et Discussion

acellulaire de cinq souches de BL appartenant aux genres *Enterococcus* et *Weissella* étaient capables d'inhiber la croissance des bactéries Gram-, cette activité dirigée contre *Escherichia coli* CB6 et *Klebsiella sp* CB2 multirésistantes aux antibiotiques se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition de 26 mm contre la souche. **Keerthini et al., (2017)**, ont démontré l'effet bactéricide d'une collection de BL isolées de produits fermentés contre une variété de bactéries Gram + et Gram- telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*.

Dans une étude conduite par **Tremonte et al., (2017)**, 90 % des bactéries Gram- testées sont parfaitement inhibées par une collection de 106 isolats de *Lb. plantarum* provenant de divers environnements fermentés, tels que le fromage.

D'après **Ryu et Chang (2013)**, l'activité antibactérienne des BL pourrait être le résultat de la synthèse d'acides organiques, CO₂, H₂O₂, diacétyle ou acétone, ou même des bactériocines. L'acide lactique et l'acide acétique sont les composés antibactériens les mieux étudiés liés à la synthèse des acides organiques. Leur pouvoir antagoniste est lié à leur capacité à réduire le pH et la formation des molécules non dissociables. Ces produits chimiques pénètrent à travers la membrane cellulaire vers le milieu le moins acide, perturbant ainsi le potentiel membranaire et interférant avec le transport du substrat (**Sui-skovi'c et al., 2010 ; Essayas et Pandit, 2021**).

L'action inhibitrice de H₂O₂ est principalement due à la dénaturation de la machinerie enzymatique et à la perturbation de la perméabilité membranaire causée par la peroxydation des lipides membranaires. De plus, la molécule aromatique Diacétyl (2,3-butanedione) générée par le BL inhibe les microbes pathogènes lorsqu'elle est présente à des fortes concentrations, et elle peut agir comme conservateur lorsqu'elle est présente à faible dose exerçant leur pouvoir sur les microorganismes d'altération (**Sui-skovi'c et al., 2010**).

Le CO₂ produit par des BL hétérofermentaires peut s'accumuler dans la bicouche lipidique membranaire des champignons et peut être à l'origine de l'activité antifongique en induisant un dysfonctionnement de la perméabilité (**Sui-skovi'c et al., 2010**).

Résultats et Discussion

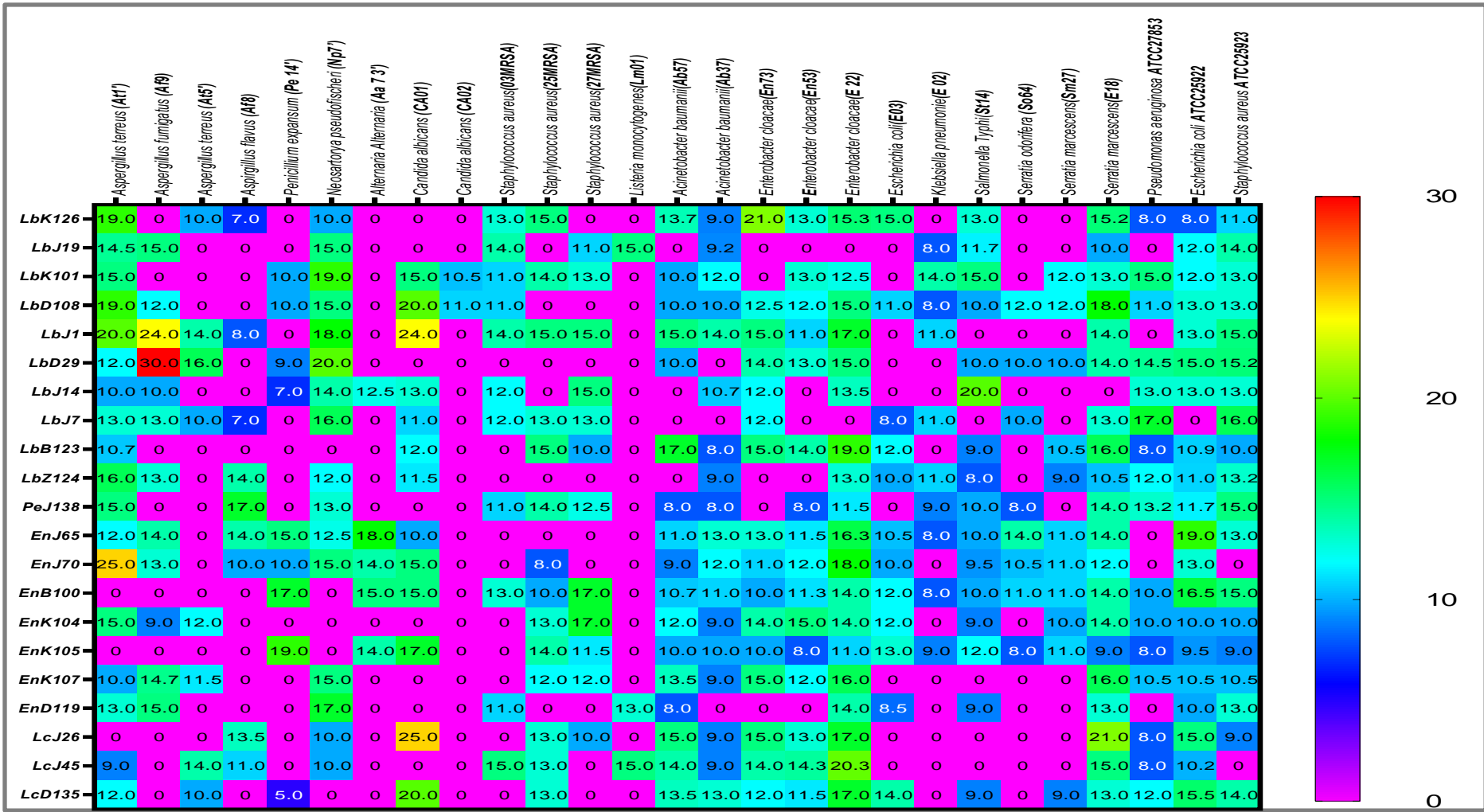


Figure n°27 : Activité antimicrobienne des 21 souches lactiques sélectionnées

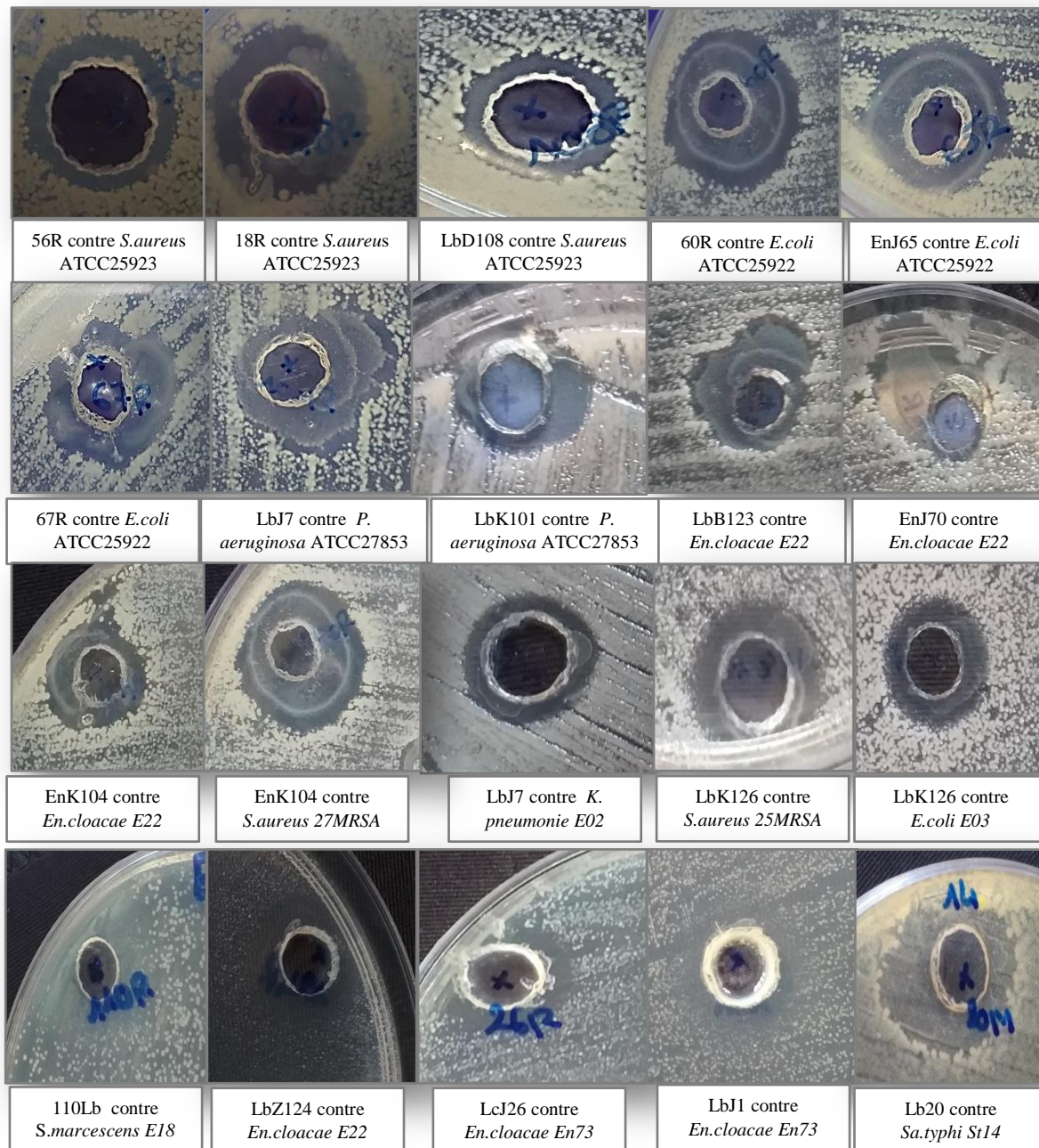


Figure n°28 : Activité antibactérienne de quelques isolats lactiques

4.2. Activité antifongique

Au cours de ces dernières décennies, plusieurs études ont démontré que les BL peuvent inhiber la croissance de champignons qui causent la détérioration des aliments, tels que *Penicillium* sp. (Barragán-Menéndez et al., 2020), dont on a testé l'activité antifongique des BL contre une variété de champignons d'origine alimentaire et de souches levuriennes cliniques par la méthode de double couche et la méthode de diffusion en puits. La **Figure**

n°27 montre l'activité antagoniste de 21 souches lactiques identifiées comme inhibitrices de champignons, avec des pourcentages d'inhibition allant de 33,34 % au 77,80%. Selon les souches lactiques productrices des molécules bioactives, les zones de lyses produites varient de 5 à 30 mm. La quantité et la nature des composés bioactifs produits par chaque souche lactique, d'après **Vuyst et al., (2004)**, peuvent expliquer la variance du diamètre des zones d'initiation. Contre le champignon *Aspergillus fumigatus*, la souche LbD29 avait le diamètre le plus élevé (30 mm). Dans ce contexte, des moisissures contaminant produits agricoles et producteurs de mycotoxine tels que le *A. brasiliensis*, *A. fumigatus* et *A. flavus* ont été évaluées comme sensibles au pouvoir antimicrobien exercé par une gamme des BL spécialement ceux appartenant au genre *Lactobacillus*. Dans une étude menée par **Fraberger et al., (2020)** sur des lactobacilles, ils ont constaté que l'espèce *Lb. plantarum*, est caractérisée par un pouvoir antifongique remarquable et que ce pouvoir est due à la capacité de *Lb. plantarum* à produire le molécules PLA" l'acide p-hydroxyphényl lactique", l'acide palmitique et même de peptides de faible poids moléculaire. Plusieurs études ont démontré l'activité antifongique de différentes souches de Lactobacilles autres que *Lb. plantarum*, à titre d'exemple la recherche de **Tatsadjieu et al., (2016)**, qui s'est focalisée sur l'étude de l'activité antifongique de 53 BL isolées d'échantillons de maïs et de maïs fermenté contre 21 souches fongiques adaptées à quatre genres : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Rhizopus*. *Lb. brevis* (2 isolats), *Lb. buchneri* (1 isolat), *Lb. cellobiosus* (1 isolat) et *Lb. fermentum* (2 isolats) ont été choisis pour leur forte activité antifongique, que les auteurs l'ont lié à la production des acides organiques, de peroxyde d'hydrogène, du diacétyle, de l'éthanol et des bactériocines.

Le résultat de l'activité anti-levurienne des souches appartenant au genre *Lactobacillus* représentés dans la **Figure n°27** est comparable à celui obtenu par **Atanassova et al., (2003)**, qui ont constaté que *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* M3 avait une activité antifongique dirigée contre *Candida albicans*, *Candida pseudointermedia* et *Candida blankii*. De même, **Ogunshe et al., (2011)** ont rapporté que le surnageant acellulaire des cultures de *Lb. acidophilus* et *Lb. plantarum* provenant d'écouvillonnages endocervicaux et vaginaux chez des patientes, avait une activité antifongique dirigé contre les agents pathogènes *Candida* sp avec des zones de lyses allant de 10,0 à 25,0 mm de diamètre. **Magnusson et al., (2003)** ont montré dans leurs recherches qu'un dipeptide cyclique produit par les BL était la molécule bioactive responsable de l'activité antifongique. Il faut souligner que les deux souches d'entérocoques EnJ65 et EnJ70 ont pu inhiber sept souches sur neuf testées. . Ces résultats

Résultats et Discussion

sont comparables à ceux de **Álvarez et al., (2020)**, qui ont découvert que les souches d'*En. faecium* agissaient avec un large spectre contre différentes moisissures produisant de l'ochratoxine A, et **Taghi-Zadeh et Nejati (2017)** qui ont également démontré dans leur recherche que le meilleur potentiel antifongique était d'*En. faecium* produit à partir de levain Iranien de blé artisanal.

Contrairement aux *Enterococcus* sp., les souches de *Lactococcus* et *Pediococcus* sélectionnées avaient une bonne activité antifongique mais un spectre d'activité étroit. Selon **Merabti et al., (2019)**, plusieurs souches de pédiocoques isolées du blé fermenté algérien Lemzeiet peuvent inhiber la croissance seulement des deux moisissures examinées *P. verrucosum* UBOCC-A-19221 et *R.mucilaginosa* UBOCC-A-216004. La bactériocine de *P. acidilactici* ST3522BG et *P. pentosaceus* ST3633BG n'a montrée aucune activité contre les champignons utilisés comme souches indicatrices (**Fugaban et al., 2021**).

Outre l'inaptitude de certaines BL à produire des molécules actives, la résistance de certaines souches testées tels que *Alternaria Alternaria* Aa73', *Aspergillus flavus* Af8 et *Candida albiacns* CA02 face aux BL peut s'expliquer par la résistance innée ou acquise développée par les moisissures contre les molécules antifongiques. Cette constatation est confirmée par les résultats de **Tatsadjieu et al., (2016)**, qui ont trouvé que certaines moisissures, dont *A. Niger* G12, *A. flavus* M15, *A. versicolor* et *Fusarium oxysporum* M22, étaient résistantes à l'activité antifongique de BL, avec des pourcentages de résistance allant de 67 à 33 %. Pour les auteurs, il s'agissait d'un phénomène lié à la résistance naturelle ou à l'acquisition des gènes de résistance par mutation.

D'après nos résultats, il paraît clair que les BL, qui ont des propriétés antifongiques sont généralement considérées comme des démarreurs microbiens inoffensifs, peuvent être un outil efficace pour contrôler ou ralentir la croissance des moisissures dans diverses situations (**Bartkiene et al., 2019**).

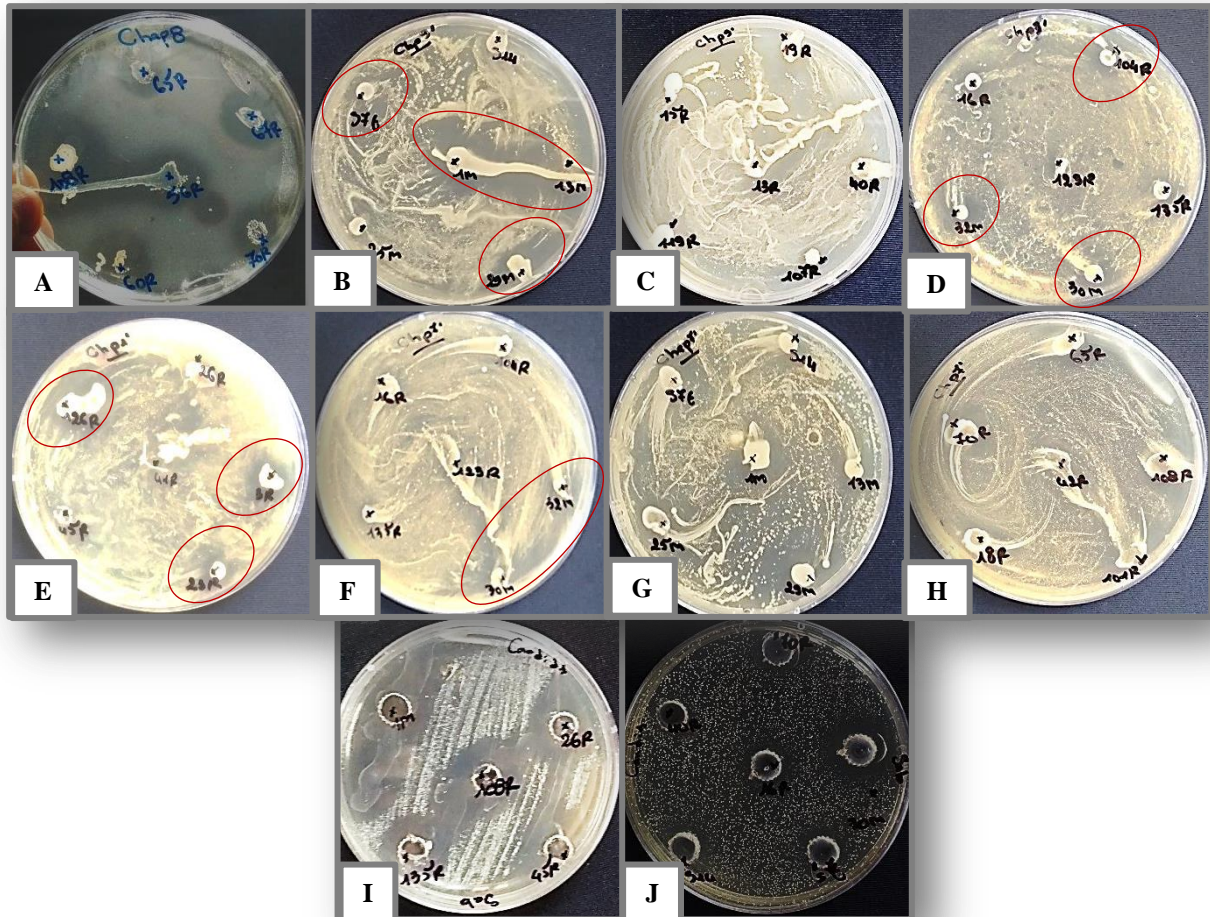


Figure n°29 : Activité antifongique de quelques isolats lactiques, A : contre *Aspergillus flavus*, B et C : contre *Aspergillus fumigatus*, D : contre *Alternaria alternaria*, E : contre *Aspergillus terreus*, F, G et H : contre *Neosartorya pseudofischeri*, I et J contre *Candida albicans* Ca01

5. Résistance aux antibiotiques (ATB)

Les 21 souches lactiques productrices des molécules antibactériens et antifongiques ont été soumises au test d'antibiogramme afin d'évaluer leur résistance aux ATB. Les ATB utilisés font partie des familles "β-lactame, aminoglycoside, tétracyclines, macrolide, quinolones et amino-pénicillines".

Selon le type d'ATB et l'isolat lactique examiné, le profil de sensibilité et de résistance aux différents ATB utilisés, comme indiqué dans le **Tableau n°07** et la **Figure n°30**, était variable entre résistant, sensible et intermédiaire. Selon les résultats toutes les souches testées étaient sensibles à l'ATB amoxicilline + acide clavulanique (AMC). Ceci est conforme aux résultats obtenus par **Chang et al., (2009)**, dans leur travail sur 41 souches de BL isolés de

Résultats et Discussion

produits laitiers étaient sensible à l'AMC. Ce résultats s'avère critique du point de vue de la sécurité pour l'utilisation des BL comme probiotiques possibles, car les bactéries probiotiques peuvent fonctionner comme un réservoir potentiel de gènes de résistance aux antimicrobiens, qui peuvent ensuite être transférés dans le tractus gastro-intestinal lorsqu'ils sont utilisés en thérapie (Biswas et al., 2017). Selon Álvarez-Cisneros et Ponce-Alquicira (2018), les BL sont porteuses de gènes de résistance qui pourraient se propager à travers la chaîne alimentaire entre les humains et les animaux, ainsi que dans l'environnement, de plusieurs manières.

Les ATB devaient pouvoir franchir la paroi cellulaire et interagir avec leur cible. Les divers processus de la résistance, sont basés sur la modification du site cible de l'ATB ainsi que sur l'abaissement de la concentration d'ATB qui parvient à atteindre la cible cellulaire (Álvarez-Cisneros et Ponce-Alquicira, 2018). Les bactéries étudiées, de divers genres, ont pu garantir cette capacité avec spécificité ; les bactéries *Lactobacillus* se sont avérées résistantes à l'ampicilline et à la tétracycline dans 60 et 50 % des cas, respectivement. La souche *Pediococcus* PeJ138 était résistante à trois des six ATB testés : érythromycine, tétracycline et ciprofloxacine. Les souches d'entérocoques sélectionnées étaient résistantes à l'ampicilline dans 57,17 % des cas et 42,85 % à la tétracycline et à la ciprofloxacine. Une résistance à l'ampicilline, à la tétracycline et à la ciprofloxacine a été trouvée dans 66,67 % des souches de *Lactococcus*, tandis que la résistance à l'érythromycine a été objectivé a 33,34 %. La résistance à l'érythromycine chez les membres des BL est généralement acquise selon Nawaz et al., (2011) et est le résultat de la traduction de gène erm(A), erm(C), erm(T) et erm(B) qui a été signalé précédemment spécialement chez les lactobacilles. Les caractéristiques de la résistance aux ATB est illustré parfaitement dans les classes des BL appartenant à la branche à faible GC, à savoir *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Pediococcus*, selon Clementi et Aquilanti (2011). La plupart des gènes de résistance, tels ceux de la tétracycline et ceux de l'érythromycine, ont été trouvés jusqu'à présent dans les espèces de *Lactobacillus* sp. *Lactococcus* sp. porte également des gènes de résistance tels que tet (M) et erm (T), ainsi que des gènes codant pour la résistance au chloramphénicol, à la streptomycine et à la tétracycline [tet (S) qui se trouvent sur divers plasmides. La protéine PBP5, est codée par des déterminants chromosomiques dans le génome central est considéré comme un mécanisme de résistance à la pénicilline chez les entérocoques (Gagetti et al., 2019).

Zhou et al., 2005 ont étudié la sensibilité aux ATB de nouvelles souches probiotiques de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. La diffusion sur disque a été utilisée pour déterminer la

Résultats et Discussion

résistance à 18 ATB régulièrement utilisés, et la majorité des bactéries étaient résistantes aux aminosides comme la gentamicine mais sensibles à l'érythromycine et aux antibiotiques à large spectre comme la tétracycline. . Les souches présentant une grande résistance aux ATB et aux antimicrobiens sont privilégiées en termes industriels, selon **Yerlikaya et al., (2020)**.

Tableau n°07 : Résultats d'antibiogramme (en mm) des isolats lactiques

Souche \ ATB	AMC (30µg)	AMP (10µg)	GEN (10µg)	E (15µg)	TE (30µg)	CIP (5µg)
LbK126	36(S)	24(S)	17(I)	25(S)	27(S)	20(S)
LbJ19	35(S)	25(S)	17(I)	25(S)	12(R)	20(S)
LbK101	36(S)	17(R)	17(I)	25(S)	12(R)	17(R)
LbD108	35(S)	16(R)	12(R)	20(S)	22(S)	27(S)
LbJ1	35(S)	21(S)	17(I)	23(S)	17(R)	28(S)
LbD29	32(S)	16(R)	15(I)	20(S)	15(R)	17(R)
LbJ14	35 (S)	15 (R)	10 (R)	20 (S)	24 (S)	24 (S)
LbJ7	35(S)	20(S)	17(I)	20(S)	25(S)	24(S)
LbB123	34(S)	16(R)	19(S)	00(R)	25(S)	27(S)
LbZ124	30(S)	17(R)	16(I)	17(R)	17(R)	18(R)
PeJ138	27(S)	23(S)	15(I)	17(R)	17(R)	15(R)
EnJ65	33(S)	22(S)	19(S)	24(S)	21(S)	25(S)
EnJ70	32(S)	20(S)	17(I)	00(R)	22(S)	16(R)
EnB100	26(S)	22(S)	16(I)	20(S)	21(S)	21(S)
EnK104	30(S)	16(R)	17(I)	20(S)	16(R)	22(S)
EnK105	27(S)	18(R)	15(I)	20(S)	20(S)	17(R)
EnK107	27(S)	12(R)	14(R)	23(S)	00(R)	16(R)
EnD119	35(S)	19(R)	19(S)	28(S)	00(R)	23(S)
LcJ26	28(S)	15(R)	17(I)	29(S)	00 (R)	17(R)
LcJ45	31(S)	15(R)	15(I)	25(S)	00 (R)	14(R)
LcD135	30(S)	21(S)	00(R)	00(R)	22(S)	25(S)

R ; résistance, S ; sensible, I ; intermédiaire

AMC ; amoxicilline + acide clavulanique, AMP ; ampicilline, GEN ; gentamicine, E ; érythromycine, TE ; tétracycline et CIP ; ciprofloxacine.

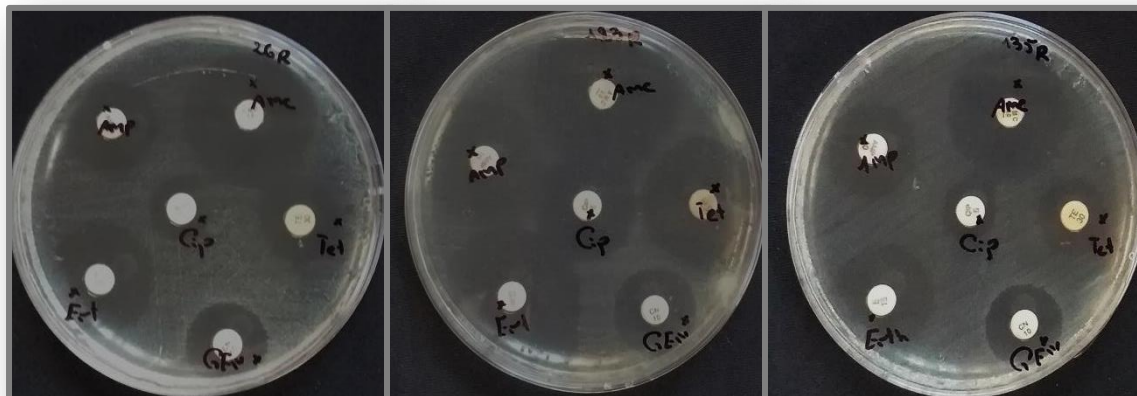


Figure n°30 : Antibiogramme de quelques isolats lactiques

IV. Identification des BL sélectionnées

Des tests d'identification ont été réalisés sur les vingt-un isolats suspectés d'être BL et répondant à la sélection probiotique et technologique. Les **Tableaux n°08 et 09** ainsi que les **Figures n°31, n°32 et n°33** montrent les résultats de l'identification au niveau de l'espèce.

Les souches de lactobacilles LbK126, LbK101, LbJ19, LbJ1, LbJ14, LbJ7, LbD108, LbD29, LbB123 et LbZ124 isolées respectivement de Klila, Jben, Dhan, Bouhezza et Zebda ont été classés selon leur pouvoir métabolique illustré en deux groupes. Selon **Mechai (2009)**, le deuxième groupe de Lactobacilles anciennement connus sous le nom de *Streptobacterium*, se distinguent par la capacité de créer ou non du gaz pendant la fermentation, bien qu'une variété d'acide lactique et d'acide acétique peuvent être le résultat de la dégradation des pentoses par la voie hétérofermentaire, avec la phosphocérolase inductible. *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* sont les membres les plus communs de ce groupe. Pour le troisième groupe, la hétérofermentation peut être illustrée après la fermentation des hexoses en un mélange métabolique; acide lactique, acide acétique ou éthanol et CO₂, tandis que les pentoses sont fermentés en acide lactique et acide acétique. Les deux espèces *Lb. reuteri* et *Lb. brevis* appartiennent à ce groupe.

Au sein des espèces, les Lactobacilles sélectionnés ont été divisés en quatre espèces (*Lb. plantarum* "5 souches", *Lb. brevis* "1 souche", *Lb. paracasei* "3 souches" et *Lb. reuteri* "1 souche") et se distinguent par la variété métabolique au sein de chaque espèce, en fonction de la souche, à titre d'exemple la production de gaz et la fermentation des divers glucides ainsi que l'adaptation et le développement dans les valeurs variables de pH et du NaCl. Ceci est expliqué dans l'étude de **Douillarde et al., (2013)**, qui ont démontrés que la capacité métabolique de 100 souches de *Lactobacillus* identifiées comme *Lb. rhamnosus* variait en raison de la présence de dix-sept variables régions codant pour des fonctions liées au mode de vie, telles que transport et métabolisme des glucides, production de pilis fixateurs de mucus et résistance aux sels biliaires. **Smokvina et al., (2013)** ont également mis en relation la variabilité métabolique de trente-quatre souches différentes de *Lb. paracasei* à travers l'énorme variété et variabilité des cassettes de gènes d'utilisation du sucre, où en fonction des souches 25 à 53 cassettes ont été détectées. Grace à leurs gènes structurés en cassettes ou modules de gènes, produisant un transporteur variable distinct, un régulateur et des enzymes catalytiques, les souches de *Lb. plantarum* présentent une spécialisation métabolique dépend de la souche (**Siezen et al., 2010; Siezen et van Hylckama Vlieg, 2011**). L'origine

Résultats et Discussion

d'isolement peut avoir un impact sur la diversité métabolique selon **Smokvina et al., (2013)**. A titre d'exemple, les trois souches de *Lb. paracasei* "LbD108, LbJ7 et LbZ124 " dans notre étude isolées de Dhan, Jben et Zebda ont démontré une variation de la fermentation en fonction du nombre et du type de glucides (**Figure n°32**).

Une souche du genre *Pediococcus* de la collection des BL étudié était particulièrement remarqué par son pouvoir technologique et probiotique ainsi que par son aspect sain. D'Homofermentation, de croissance à 15, 30, 40 et 45C° mais pas à 10C°, de sa résistance à pH 4,4 et NaCl de 6,5% mais pas à pH alcalin 9,6 et de sa forte halotolérante à 10 et 18 % de concentrations de NaCl, ces caractéristiques ont été bien attribués a cette souche désignée PeJ138. Cette dernière a la capacité de fermenter une variété de sucres, y compris l'arabinose, le glucose, le sorbitol, la N-acétylglucosamine et même le tagatose et le gluconate. Et a la base de ces caractéristiques physiologiques et métaboliques que cette souche a été attribuée à l'espèce *P.pentosaceus*. Notant que dans la même veine, la souche *P.pentosaceus* codée MZF16 a montré une capacité de se développer dans des conditions de faible teneur en sel et à des températures allant de 30 à 45 C°, ainsi qu'un équipement enzymatique, à savoir une variété d'enzymes dégradant les glucides, telles que N - acétyl-b-glucosaminidase, la β -glucosidase et la α -glucosidase, expliquant pourquoi cette souche peut employer une variété des sucres dans leur métabolisme (**Zommiti et al., 2018**).

La souche PeJ138 a démontré une adaptation typique à l'espèce *P. pentosaceus* en utilisant le test de biotype Maldi-tof Ms (**Tableau n°09**), confirmant la classification phénotypique. Des conclusions similaires ont été faites dans les études de **Doan et al., (2012)** et **Soro-Yao et al., (2014)**, où l'analyse Maldi-tof Ms était nécessaire pour confirmer la catégorisation au sein des espèces des BL, y compris l'espèce *P. pentosaceus* isolée à partir des articles fermentés.

Sept des isolats lactiques sélectionnés peuvent être classés dans le genre *Enterococcus*, tenant compte des critères approfondis ces souches ont été divisées en deux espèces "EnJ65, EnJ70, EnK104, EnK105 et EnK107" comme *En. faecium* et "EnB100 et EnD19" comme *En. durans*. Qui ont montré une variation dans leur adaptation physiologique contre diverses conditions hostiles de pH, du NaCl et de température, ainsi qu'une variation métabolique dans les profils de fermentation avec l'utilisation de 25 à 27 sucres, selon la souche.

Résultats et Discussion

Les réactions à l'identification des souches d'*Enterococcus* ont varié selon l'endroit d'isolement. Cela était particulièrement évident dans la synthèse d'acide à partir de sucres spécifiques par des souches d'*En. faecium* obtenues à partir de poulets et d'hôtes mammifères (Devriese et al., 1987). Les traits d'identification physiologiques essentiels d'*Enterococcus* diffèrent entre les groupes de la même espèce, selon Facklam et Collin, (1989), il est donc préférable d'interpréter les résultats des tests clés dans leur ensemble. Selon Yerlikaya et Akbulut (2020), les deux espèces *En. durans* et *En. faecium* sont considérées comme la même espèce dans plusieurs recherches, et seulement quelques paramètres métaboliques, tels que la fermentation du raffinose, du sorbitol, d'arabinose et du mannitol, peuvent les distinguer. Ces souches avaient des profils presque identiques dans notre revue, et seul le test de Maldi-Tof MS a pu les classer en deux espèces. Cette méthodologie, selon plusieurs auteurs, s'est avérée un moyen fiable pour identifier les bactéries lactiques d'origines diverses.

Stepien-Pysniak et al., (2017) ont découvert que l'utilisation de l'approche Maldi-Tof Ms les aidait à différencier entre les membres d'*Enterococcus* et fournissait une identification fiable au sein de l'espèce. Dans leurs recherches, Dobrani et al., (2016) ont démontré que Maldi-Tof Ms est une technique capable d'identifier avec succès non seulement les souches d'*Enterococcus* mais tout le microbiote d'un milieu tel que le lait cru, où l'analyse des profils spectraux des isolats a donné des résultats d'identification parfaits même pour les souches non identifiées ou identifiées uniquement au sein du genre par le système Api. Le test Maldi-Tof MS a été utilisé pour identifier avec succès les souches *En. faecium*, *Leuconostoc mesenteroides*, *En. faecalis*, *Lc. lactis* et même *P. pentosaceus* isolées de fromages artisanaux au niveau de l'espèce (Ledina et al., 2018).

Sur la base des caractéristiques métaboliques et moléculaires, trois souches (LcJ26, LcJ45 et LcD135) ont été adapté à l'espèce *Lc. lactis*, dont deux sont attribuées à la sous-espèce *Lc. lactis* subsp. *lactis*. Ces souches étaient des homofermentaires, poussant à des températures de 10, 30, 40 et 45 C° sous diverses conditions de pH et de salinité. La souche LcJ26 était incapable de s'adapter à la température de 15°C et de croître. Les trois souches utilisaient dix-sept sucres, dont le L-arabinose, le D-ribose et même la N-acétylglucosamine, dans un profil de fermentation comparable (Tableau n° 08). D'après les résultats d'identification biochimique, les souches choisies ne répondent pas à 100 % aux tests phénotypiques décrivant l'espèce, comme la capacité à résister à l'halotolérance et l'utilisation de saccharose. Le phénotype des souches de *Lc. lactis* est nécessaire mais insuffisant pour la désignation et la différenciation des sous-espèces, selon Kristensen et al., (2020). La

Résultats et Discussion

tolérance au NaCl (3,4%, 8% et 15%) des souches de démarrage *Lc. Lactis* a été étudiée, les résultats démontrent une résistance différente avec un niveau de cellules viables selon la souche, mais aucun changement significatif entre les sous-espèces n'a été découvert. Auparavant, les critères taxonomiques pour *Lc. lactis* et ses sous-espèces étaient basés sur le phénotype, et la différenciation était obtenue par la croissance à différentes températures, la tolérance au sel et l'utilisation de l'arginine, Cependant, après l'introduction de méthodes d'identification moléculaire, on a découvert que les niches écologiques des souches pourraient avoir un impact sur leur phénotype, et qu'une combinaison d'analyses génotypiques et phénotypiques est nécessaire pour fournir une identification spécifique des souches (McAuliffe, 2018) . *Lc. lactis* isolée de la flore non laitière, comme dans cette étude, la matière végétale fermentée, est souvent liée à la fermentation d'un large spectre de sucres. Ceci s'explique par la présence d'une variété de carbohydrates naturellement dans le matériel végétal contrairement à l'écosystème laitier. Cela se reflète dans certaines parties des génomes où le séquençage du génome entier de souches provenant d'habitats végétaux a révélé qu'une grande partie de ces génomes est dédiée au métabolisme des sucres végétaux " (Siezen et al., 2011).

En corrélation avec nos résultats plusieurs enquêtes antérieures ont montré que la flore des aliments fermentés artisanaux contient une gamme de BL d'origine, avec une prédominance de *Lb. plantarum* et *En. faecium*. Les 105 souches lactiques isolées des fromages iraniens artisanaux ont été divisées en deux catégories basées sur des critères biochimiques et moléculaires, l'une des bacilles dans laquelle *Lb. plantarum* domine avec un pourcentage de 53,6% et une autre des coques avec un pourcentage de 74,47 % de dominance d'*En. faecium*. Les lactobacilles ont également été trouvés sous la forme de *Lb. paracasei* (32,7%), tandis que les cocci ont été trouvées pareillement sous la forme d'*En. durans* (25,53 %) (Parsaeimehr et al., 2019). *Lb. plantarum* (41,6%), *Lb. brevis* (39,2%), *En. faecium* (13,6%) et *En. durans* (3,2%) été les BL les plus fréquemment isolées des fromages artisanaux (Partovi et al., 2015). Ces micro-organismes sont adaptés à la production de fromage selon Luiz et al., (2017).

Résultats et Discussion

Tableau n°08 : Résultats de test d'identification physiologiques et biochimiques des souches lactiques sélectionnées

Souches lactiques	LbK1 26	Lb J1	Lb K1 9 01	Lb108	LbJ1	LbD29	LbJ14	LbJ7	LbB1 23	LbZ124	PeJ138	EnJ65	EnJ70	EnB 100	EnK1 04	EnK1 05	EnK1 07	EnD 119	LcJ 26	LcJ 45	LcD135
Production de CO ₂	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Caractérisation physiologiques																					
Croissance à 10C°	+	+	+/-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Croissance à 15C°	-	+	-	+/-	-	+	+	+	-	+/-	+	-	-	+	-	+/-	+	+	-	+	+
Croissance à 30C°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 40C°	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Croissance à 45C°	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à pH 4,4	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
Croissance à pH 9,6	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
Croissance à 6.5% NaCl	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Croissance à 10.0% NaCl	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Croissance à 18.0% NaCl	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Fermentation des sucres																					
GLY	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ERY	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
DARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LARA	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
RIB	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
DXYL	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LXYL	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ADO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MDX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GAL	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
FRU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SBE	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
RHA	-	+/-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DUL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-

Résultats et Discussion

INO	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAN	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+/-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	+/-	+/-
SOR	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
MDM	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
MDG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+	+/-	+/-	-	-	-
NAG	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AMY	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ARB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ESC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CEL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
MEL	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
SAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TRE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-
INU	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MLZ	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RAF	+	+	+	-	+/-	+/-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMD	-	+/-	-	+/-	-	-	+/-	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	+	-	-	-
GLYG	-	-	+/-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEN	+	+	+	+	+/-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-
TUR	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LYX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TAG	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	+	+/-	-	-	-
DFUC	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LFUC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DARL	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LARL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+	-	-	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-
2KG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5KG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Espèce présumé	<i>Lb.plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. paracaei</i>		<i>Lb.plantarum</i>		<i>Lb.paracaei</i>	<i>Lb.curvatus</i>	<i>Lb.paracaei</i>	<i>P.pentosacens</i>	<i>En.faecium</i>	<i>En.faecium/En.faecalis</i>	<i>En.durans</i>	<i>En.faecium</i>		<i>En.faecium</i>	<i>Lc.lactis</i>	<i>Lc.lactis</i>	<i>Lc.lactis</i>	<i>Lc.lactis</i>	<i>Lc.lactis</i>

GLY: Glycérol, **ERY:** Erythritol, **DARA:** D-Arabinose, **LARA:** L-Arabinose, **RIB:** DRibose, **DXYL:** D-Xylose, **LXYL:** L-Xylose, **ADO:** D-Adonitol, **MDX:** Méthyl-βD-Xylopyranoside, **GAL:** D-Galactose, **GLU:** D-Glucose, **FRU:** D-Fructose, **MNE:** D-Mannose, **SBE:** L-Sorbose, **RHA:** L-Rhamnose, **DUL:** Dulcitol, **INO:** Inositol, **MAN:** D-Mannitol, **SOR:** D-Sorbitol, **MDM:** Méthyl-αDMannopyranoside, **MDG:** Méthyl-αD-Glucopyranoside, **NAG:** N-AcétyleGlucosamine, **AMY:** Amygdaline, **ARB:** Arbutine, **ESC:** Esculine, **SAL:** Salicine, **CEL:** D-Cellobiose, **MAL:** D-Maltose, **LAC:** D-Lactose, **MEL:** D-Mélibiose, **SAC:** D-Saccharose, **TRE:** D-Trehalose, **INU:** Inuline, **MLZ:** D-Mélizitose, **RAF:** D-Raffinose, **AMD:** Amidon, **GLYG:** Glycogène, **XLT:** Xylitol, **GEN:** Gentiobiose, **TUR:** D-Turanose, **LYX:** D-Lyxose, **TAG:** D-Tagatose, **DFUC:** D-Fucose, **LFUC:**LFucose, **DARL:** D-Arabitol, **LARL:** L-Arabitol, **GNT:** Gluconate, **2KG:** 2-CétoGluconate, **5KG:** 5- CétoGluconate.

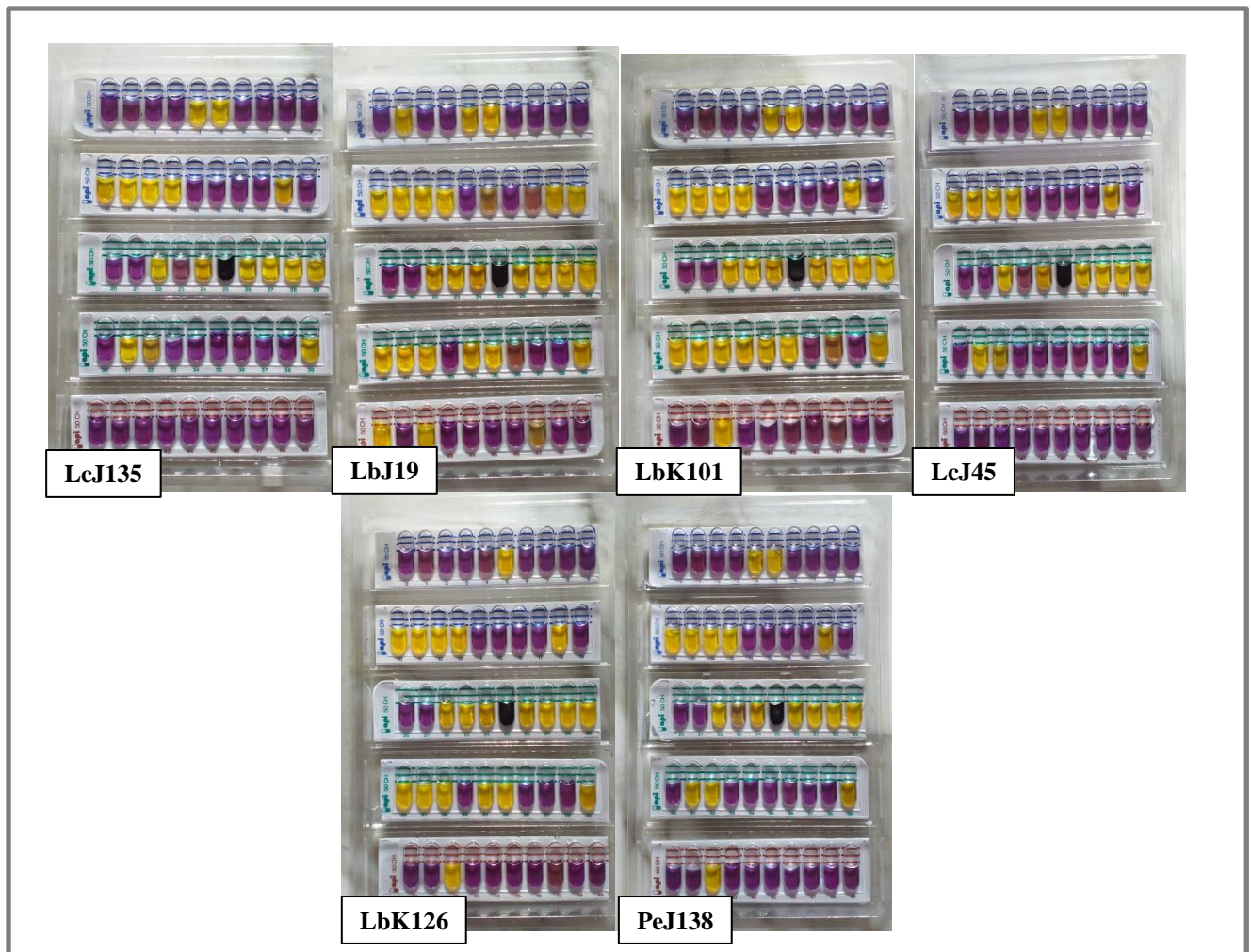


Figure n° 31 : Résultats du profil fermentaire de six souches lactiques sur la galerie API 50 CHL après 48 h d'incubation

La carte thématique de la **Figure n° 32** montre clairement que tous les groupes lactiques partagent des propriétés physiologiques similaires ; vingt-une BL appartenant à quatre genres et huit espèces ont le même type de fermentation de plus de 15 sucres examinés, et certains groupes appartenant à des genres différents partagent même des capacités de développement dans des conditions communes. La carte thématique démontre également que les différences de classement phénotypique de nombreux isolats peuvent être liées à une seule caractéristique ; néanmoins, au sein d'une même espèce, certaines qualités peuvent être classées comme intenses, moyennes, voire absentes selon les souches. Par conséquent, les informations fournies par ces types de test sont insuffisantes pour une classification standard, confirmant notre décision d'utiliser le test Maldi-Tof MS pour assurer l'identification.

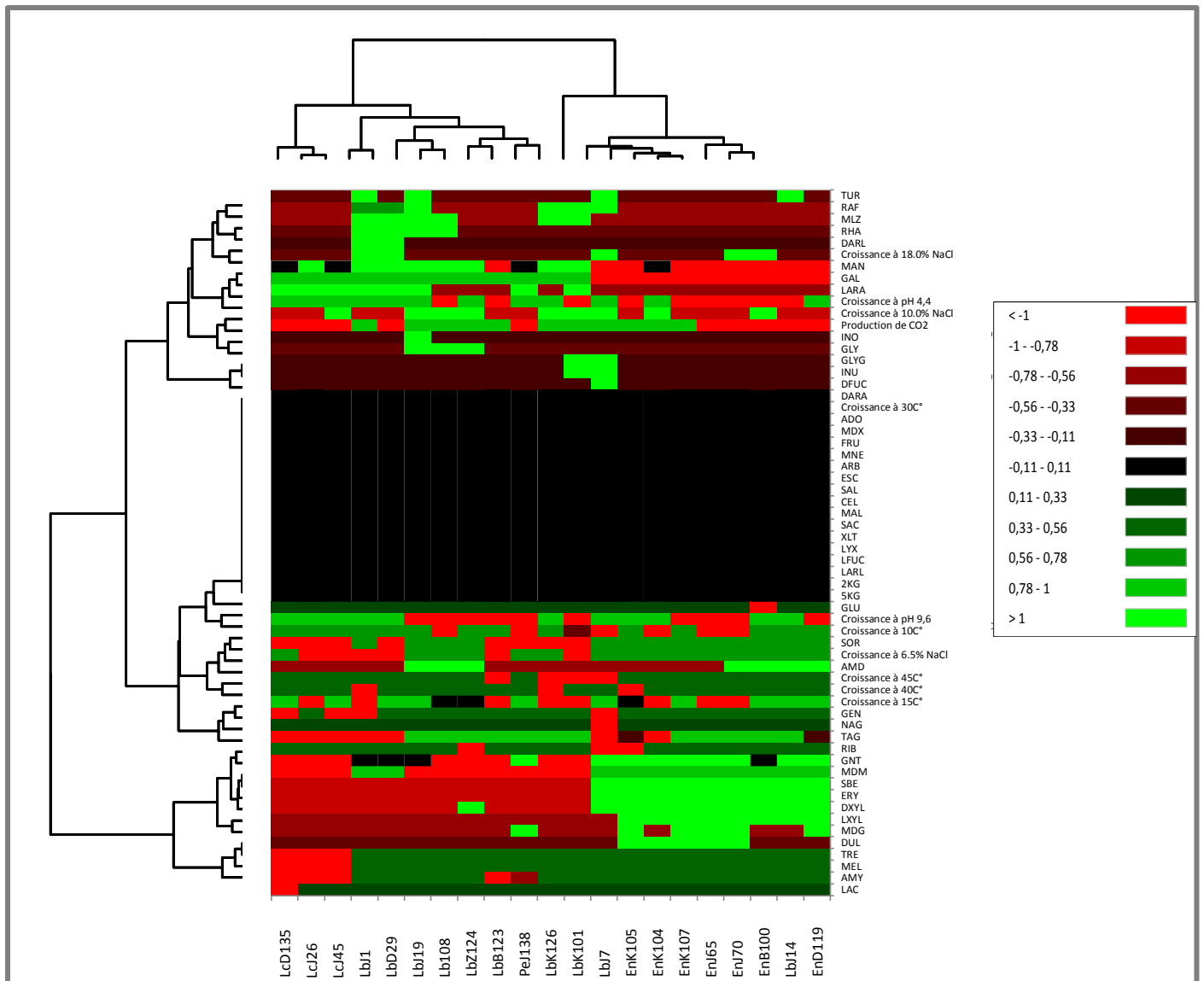


Figure n° 32 : Carte thermique tracée les activités physiologique et la fermentation des carbohydrates par les 21 BL sélectionnés

Tableau n°09 : Résultats de test d'identification Maldi-Tof Ms des souches lactiques sélectionnées

Souche lactique	Origine d'isolement	Espèce .préssumé	valeur du score de Spectrum 1	Espèce .préssumé	valeur du score de Spectrum 2
LbK126	Klila	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2.314	<i>Lctobacillus plantarum</i>	2.065
LbJ19	Jben	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.823	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.712
LbK101	Klila	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.082	<i>Lactobacillus brevis</i>	1.874
LbD108	Dhan	<i>Lactobacillus paracasei</i>	2.288	<i>Lactobacillus paracasei</i>	2.227
LbJ1	Jben	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.939	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	1.884
LbD29	Dhan	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.84	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.769
LbJ14	Jben	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.85	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.769
LbJ7	Jben	<i>Lactobacillus paracasei</i>	1.85	<i>Lactobacillus paracasei</i>	1.85
LbB123	Bouhezza	<i>Lactobacillus reuteri</i>	2.036	<i>Lactobacillus reuteri</i>	1.823
LbZ124	Zebda	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i>	1.706	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i>	1.833
PeJ138	Jben	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1.772	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1.761
EnJ65	Jben	<i>Enterococcus faecium</i>	2.345	<i>Enterococcus faecium</i>	2.246
EnJ70	Jben	<i>Enterococcus faecium</i>	2.181	<i>Enterococcus faecium</i>	2.081
EnB100	Bouhezza	<i>Enterococcus durans</i>	1.796	<i>Enterococcus durans</i>	1.72
EnK104	Klila	<i>Enterococcus faecium</i>	2.417	<i>Enterococcus faecium</i>	2.245
EnK105	Klila	<i>Enterococcus faecium</i>	2.245	<i>Enterococcus faecium</i>	2.205
EnK107	Klila	<i>Enterococcus faecium</i>	2.502	<i>Enterococcus faecium</i>	2.315
EnD119	Dhan	<i>Enterococcus durans</i>	2.041	<i>Enterococcus durans</i>	2.010
LcJ26	Jben	<i>Lactococcus lactis</i>	2.365	<i>Lactococcus lactis</i>	2.072
LcJ45	Jben	<i>Lactococcus lactis sp lactis</i>	2.264	<i>Lactococcus lactis</i>	2.184
LcD135	Dhan	<i>Lactococcus lactis</i>	1.899	<i>Lactococcus lactis</i>	1.812

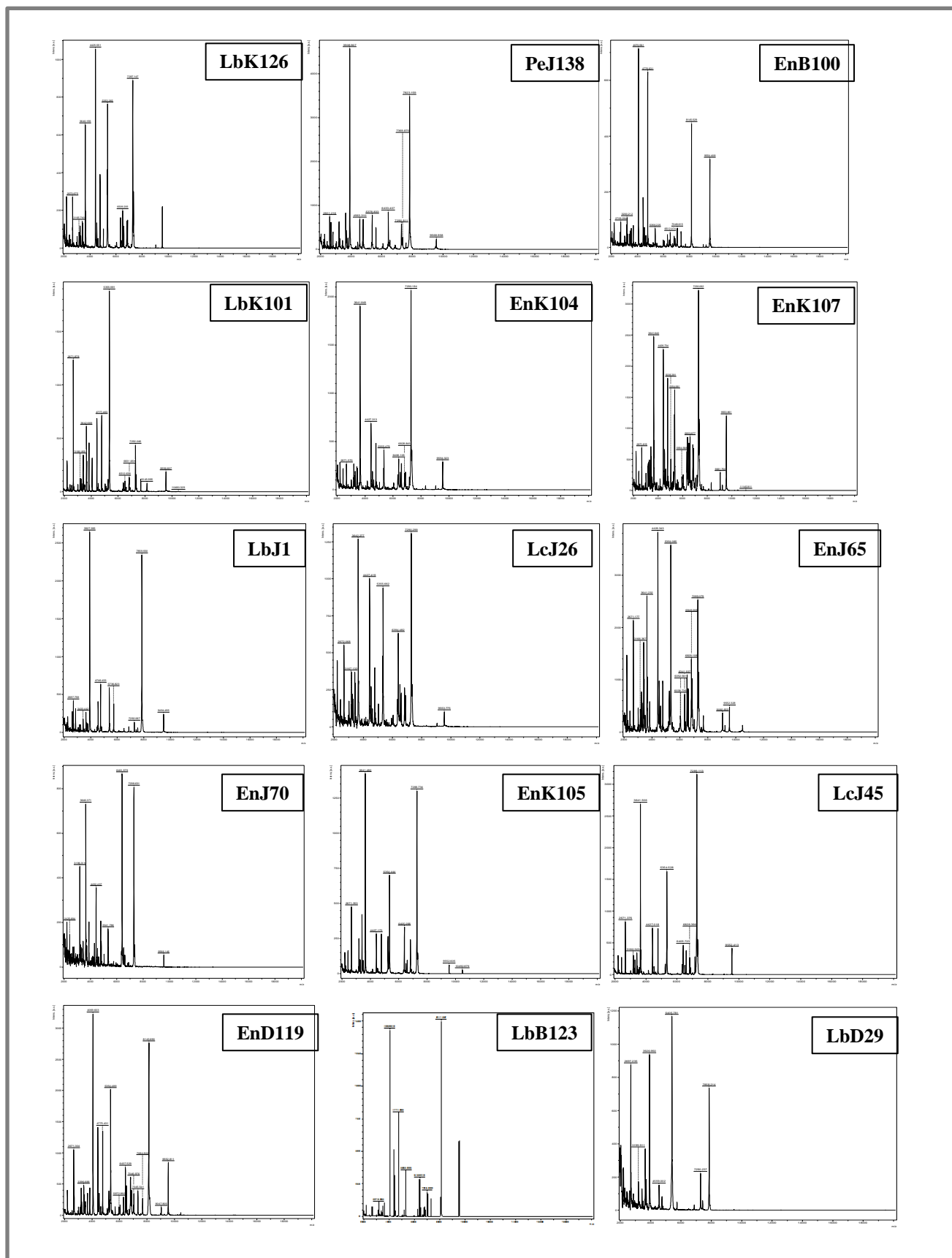


Figure n°33 : Spectres de masse de quinze souches lactiques

V. Préparation d'un fromage frais à base de ferments mixtes et évaluation de sa qualité

Le criblage des ferments lactique mixtes et la réalisation de plusieurs fabrications sur de minuscules quantités de matières premières à l'échelle du laboratoire sont nécessaires pour fabriquer et commercialiser un nouveau produit laitier (**Luquet et Corrieu, 2005**).

1. Choix des ferments mixtes

Pour répondre aux besoins des clients, les chercheurs ont étudié le mélange des différentes souches isolées naturellement ou par des technologies de génie génétique pour créer de nouvelles cultures de démarrage dans le but de générer des aliments fermentés plus sûrs avec des caractéristiques spécifiques (**Bintsis, 2018**).

Dans cette partie du travail actuel, on s'intéresse à l'évaluation de la capacité de huit BL parmi les vingt-une sélectionnées comme bons technologiques et probiotiques qui n'ont pas d'interaction négative entre eux à produire des FM, et comme une quantité adéquate et équilibrée de BL doit être choisie pour les FM selon **Rakhmanova et al., (2018)**, douze FM ont été créés après une combinaison aléatoire deux par deux (1V/1V) de BL choisies comme suit :

- * **FM 1** ; *Lb.plantarum* (LbJ1) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM2** ; *Lb.plantarum* (LbJ1) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM3** ; *Lb.plantarum* (LbD29) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM4** ; *Lb.plantarum* (LbD29) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM5** ; *En.faecium* (EnJ70R) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM6** ; *Lb.plantarum* (LbJ14) avec *P.pentasaceus* (PeJ138).
- * **FM7** ; *En.faecium* (EnJ65R) avec *P.pentasaceus* (PeJ138).
- * **FM8** ; *Lb.paracasei* (LbJ7) avec *Lc.lactis* (LcJ45).
- * **FM9** ; *Lb.paracasei* (LbJ7) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM10** ; *Lb.plantarum* (LbJ14) avec *En.faecium* (EnJ70R).
- * **FM11** ; *Lc.lactis* (LcJ45) avec *En.faecium* (EnJ65R).
- * **FM12** ; *Lb.plantarum* (LbJ1) avec *P.pentasaceus* (PeJ138).

Les BL constitutives d'un FM doivent avoir des interactions positives, qui ont un impact sur la qualité technologique des produits. Ces interactions, selon **Bintsis (2018)**, sont centrées sur la capacité de BL à entreprendre trois processus de dégradation majeurs : la glycolyse, la lipolyse et la protéolyse.

Résultats et Discussion

Les interactions technologiques des douze FM formés sont étudiées, et les résultats sont donnés dans les **Figures n° 34** et **n°35**.

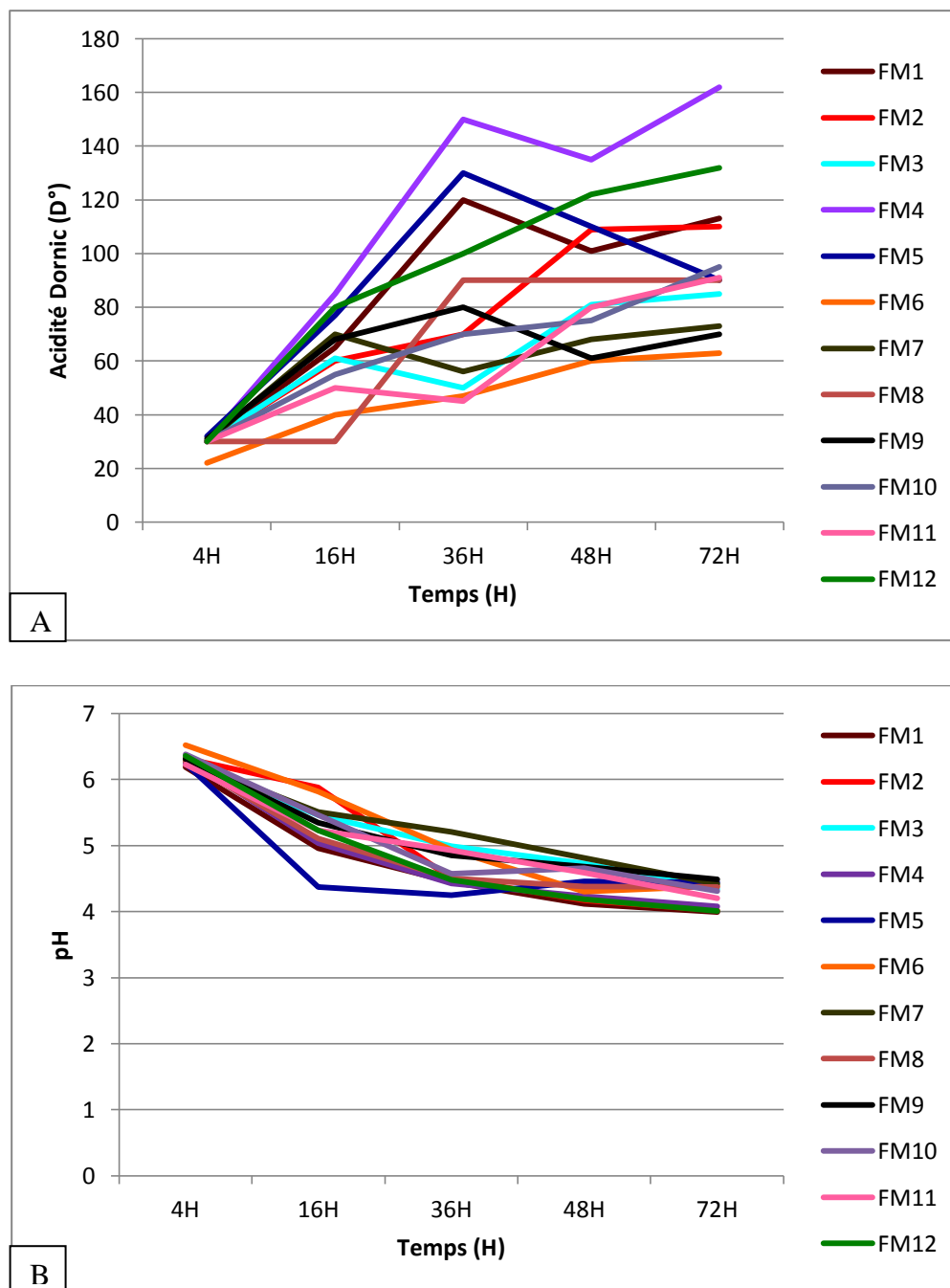


Figure n°34 : Pouvoir acidifiant de douze ferments mixtes, **A** : Production de l'acide lactique par les douze ferments mixtes en fonction de temps (H), **B** : Evolution de pH de milieu sous douze ferments mixtes en fonction de temps (H)

Plusieurs études, y compris la nôtre, ont montré la diversité des résultats des interactions positives des FM. Au départ, comme mentionné dans la **Figure n° 34**, tous les FM ont présenté une capacité de production d'acide lactique et une diminution progressive du pH tout

Résultats et Discussion

au long la durée de test, avec des valeurs variant d'un FM à l'autre. Après 36 heures de l'expérience, la production d'acide lactique par les FM4, FM5 et FM1 a atteint des niveaux intéressants de 15 g/l, 13 g/l et 12 g/l, respectivement. À l'exception de FM5, où une valeur de pH inférieure à 5 "4,37" a été observée dans les 16 heures suivant l'incubation dans du lait écrémé à 10 %, la réduction du pH pertinente peut également être attribuée à 36 heures de test. La combinaison de souches des sous-espèces *lactis* et *cremoris*, ainsi que *lactis biovar diacetylactis*, des *leuconostoc* spp. et *Lactobacillus* spp., a été créée dans l'étude de **Alegria et al., (2016)**, et une évaluation de la coagulation par les neuf starters produits par la combinaison a été recherchée. Les résultats ont révélé que tous les starters ont montrés une activité coagulante et que la variation de pH avait diminué après 24 heures avec un pH du produit final variait de 4,12 à 4,37 selon le starter utilisé. Dans le même ordre d'idées, **Ao et al., (2012)** ont découvert que le pouvoir acidifiant varie en fonction de la culture de démarrage ou, plus précisément, du BL qui compose les démarrages employés.

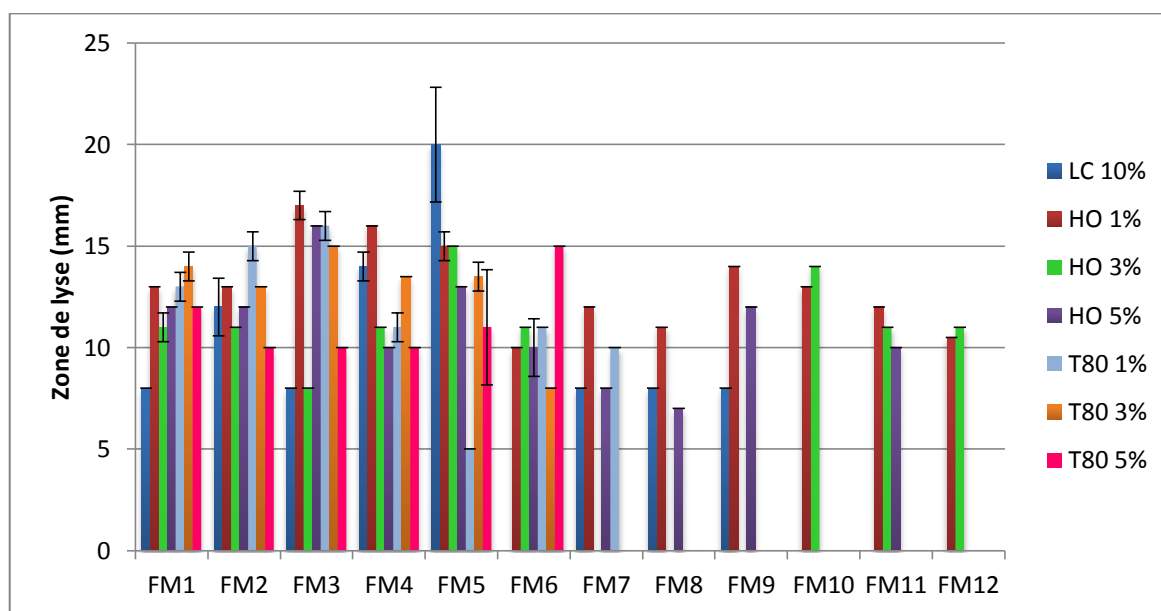


Figure n° 35 : Caractéristiques protéolytiques et lipolytiques des douze ferments mixtes ; **HO1%** ; Huile d'olive 1%, **HO3%** ; Huile d'olive 3%, **HO5%**; Huile d'olive 5%, **T80 1%**; Tween 80 1%; **T80 3%**; Tween 80 3%, **T80 5%**; Tween 80 5%; **LC10%**; Lait écrémé 10%.

En utilisant du lait écrémé à 10 %, huit des douze FM sélectionnés ont pu hydrolyser les protéines du lait ; trois de ces FM ont montré une activité hydrolytique raisonnablement forte, avec des moyennes de lyse allant de $20 \pm 2,83$ à $12 \pm 1,41$ mm. Lors de l'utilisation d'huile d'olive "la source naturelle" avec des concentrations variables, la lipolyse a été documentée avec des zones de lyse améliorée par rapport à l'utilisation de la source artificielle Tween 80

Résultats et Discussion

(Figure n° 35). Dans le milieu lait écrémé à 12 %, la production d'EPS a été enregistrée par tous les FM testés surtout par FM1, FM3 et FM7. Une activité favorable a été observée pour la création d'arômes, à l'exception pour les FM4 et FM7. On peut conclure des données illustrées variables entre positive, négative avec ou sans intensité (Figure n° 36) que l'activité synergique entre les souches composant les FM a influencé leur potentiel technologique. Ceci est conforme aux conclusions de **Alegria et al., (2016)**, qui ont constaté que la capacité de s'adapter et d'évoluer en tant que groupe affecte le taux de survie ainsi que la capacité technologique des souches des starters étudiées.

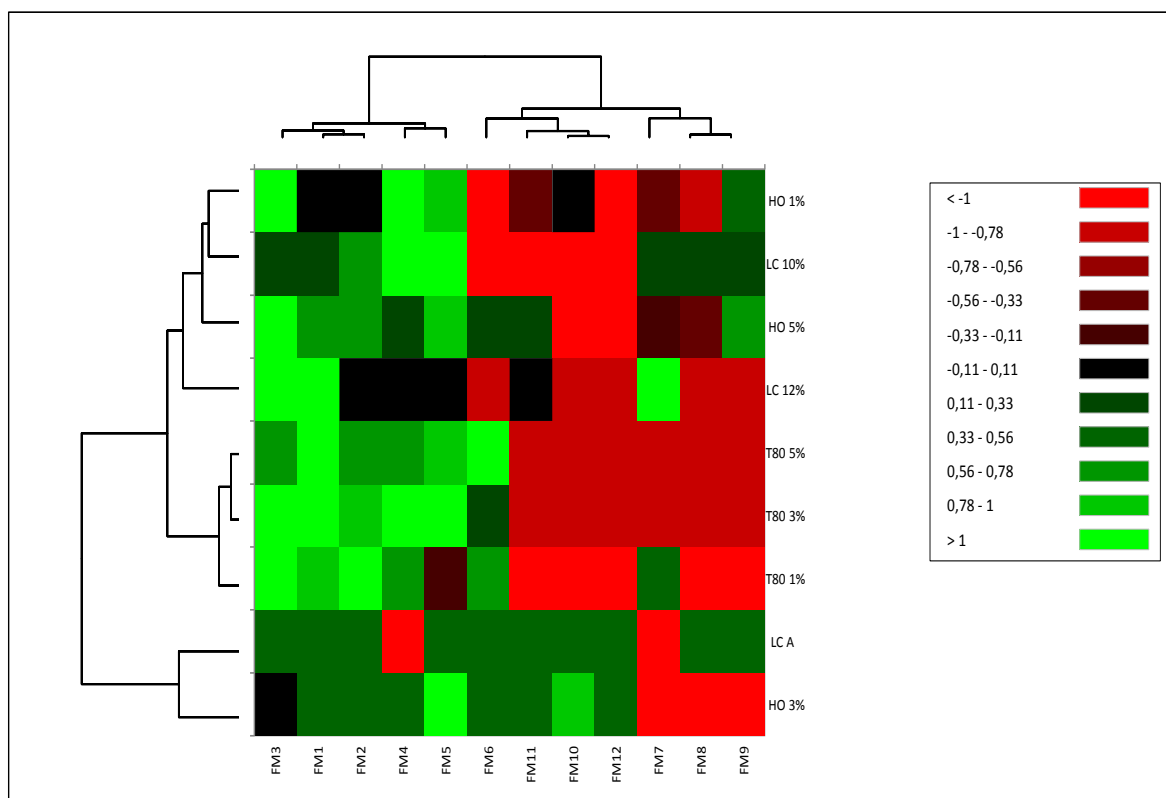


Figure n° 36 : Carte thermique tracée les activités protéolytiques, lipolytiques, la production des EPS et d'arômes par les douze FM, **LC12%**; Lait écrémé 12%, **LCA**; Lait écrémé pour l'activité Aromatisant.

En prenant comme référence les résultats de pouvoir acidifiant ainsi que ceux mentionnés dans la carte thermique (Figure n°36) après une étude statistique des données observées de l'activité enzymatique, texturant et aromatisant, les **FM4** et **FM5** ont été choisis comme les plus technologiques par rapport aux autres FM avec une intensité et une variabilité dans l'activité. Ces FM sont constitués de souches mésophiles pouvant supporter des températures comprises entre 40 et 45 C°. Selon **Ayad et al., (2000)**, les FM présents dans la plupart des fromages commercialisés sont classés comme mésophiles, mais une capacité de

développement dans la température de 40C° est recherchée, et cela est une caractéristique des souches sauvages orientées vers l'utilisation industrielle.

2. Préparation des fromages frais de type "Jben"

Deux échantillons de fromage non affiné ont été fabriqués à partir des deux FM choisis. Selon **Mokoena et al., (2016)**, les starters probiotiques pour les aliments fermentés traditionnels doivent avoir au moins 10^6 UFC/ml, c'est pourquoi les FM ont été inoculés dans du lait pasteurisé avec un ordre de 10^8 UFC/ml. Le premier fromage frais a été fabriqué par le levain FM4 et a été baptisé **FC1**, tandis que le second a été fabriqué par le levain FM5 et a été baptisé **FC2**.

Les rendements des deux échantillons produits sont très différents malgré l'utilisation d'un même type de lait. dans notre travail ses modification peuvent être attribuées à la différenciation des types de ferments lactiques utilisés. Dans les entreprises où une petite variation de rentabilité peut avoir un impact économique majeur et se traduit par de grandes sommes d'argent, le rendement fromager est un facteur recherché (**Guo et al., 2004**). Pour le FC1 a été de 34,93 % \pm 3,64, tandis que pour FC2 a été de 42,25% \pm 3,18. Ce résultat est cohérent avec la littérature où le fromage frais a généralement un rendement supérieur à 20 % (**Hadef, 2012**). Ceux qui sont obtenus étaient supérieurs à ceux trouvés dans d'autres enquêtes, dont ceux de **TADJINE et al., (2019)** et **Benheddi et Hellal (2019)**. **Sant'Ana et al., (2013)** ont expliqué cet attribut en liant les rendements élevés des fromages, notamment ceux fabriqués à partir de lait de vache, à leur composition, riche en protéines et en matières grasses.

Après une période de stockage, les activités probiotiques et technologiques du BL dans les fromages frais deviennent insuffisantes pour maintenir la qualité du produit final ; cela pourrait nuire à la durée de conservation (**Bassi et al., 2020**). Afin de préserver la qualité organoleptique, physico-chimique et microbiologique des échantillons, l'incorporation des fromages frais par l'huile essentielle de cannelle de chine "*Cinnamon cassia*" (HECC) a été étudiée et les résultats de la composition physico-chimique, microbiologique et sensorielle des fromages frais sans et avec HECC ont été illustrés.

3. Extraction et Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de l'écorce de cannelle a été extraite et identifiée à l'aide de méthodes d'hydro-distillation et de la CG/MS. L'analyse GC/MS de HECC a été répertoriée dans le

Résultats et Discussion

Tableau n° 10 et la **Figure n° 37** avec les pourcentages, les durées de rétention et l'identification chimique. Elle a conduit à l'identification de 42 composants, représentant 99,144% du total, le (E)-cinnamaldéhyde était le composant majeur avec 87,816%. 1,767%, 1,222 %, 1,082 % et 1,030% suivent de manière correspondante (E)-acétate de cinnamyle, aldéhyde hydrocinnamique,-pinène et 1,8-cinéole. D'après les recherches de **Zolfaghari et Ansar (2020)** et **Kaániová et al., (2021)** la quantité et la qualité de la composition chimique des HE peuvent être influencées par les variations des zones géographiques, de périodes de récolte, de temps de distillation et de circonstances et même les organes de prélèvement de la même espèce et les saisons ou les mois de maturité des branches ou des feuilles. Dans leur recherche **Parihar et al., (2021)** ont rapporté que la composition chimique de HECC a été variable selon l'organe et le composant dominant obtenu à partir de l'huile volatile d'écorce de cannelle été le (cinnamaldéhyde). Alors que selon **Zhang et al., (2019)**, les phénylpropanoïdes sont les composants bioactifs trouvés principalement avec le cinnamaldéhyde, l'élément représentatif de la plante, dans l'écorce de *C. cassia*. Ceci est cohérent avec nos conclusions. Et comme la qualité de l'huile est déterminée par la quantité de produits chimiques bioactifs qu'elle contient, nous pouvons identifier notre échantillon comme une HE de haute qualité. Ceci est comparable à plusieurs rapports de recherche qui ont signalé que les pourcentages de cinnamaldéhyde, le composant majeure bioactive dans la composition chimique de l'écorce de HECC, étaient de l'ordre de 60 à 90 %. Dans le rapport scientifique de **Werrie et al., (2021)** le trans-cinnamaldéhyde constituait 91,22 % de la composition de cette huile, et dans l'analyse GC-MS de neuf échantillons de cette HE **Li, YQ et al., (2013)** ont révélé que la molécule principale était trans-cinnamaldéhyde avec un taux variable selon l'échantillon entre 66,28 et 81,97 %. Cette quantité peut se traduire par une activité bioactive intense garantissant le pouvoir bioactif de l'HECC mis en jeu.

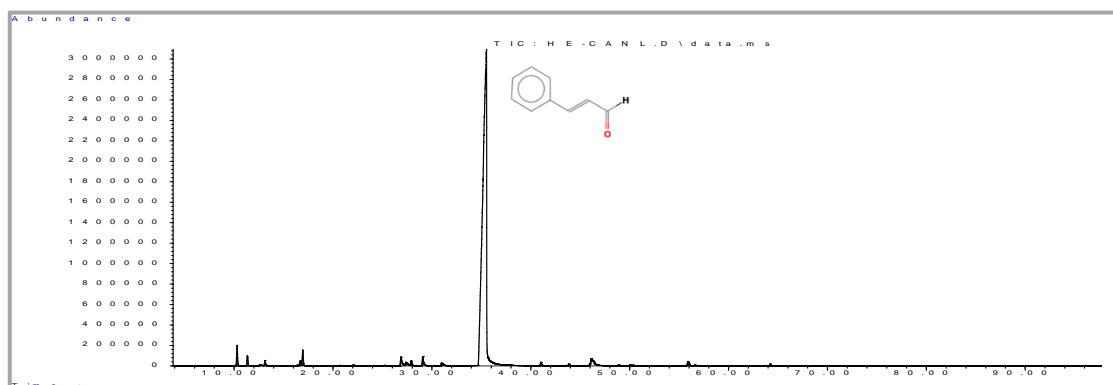


Figure n°37 : Spectre d'identification de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*

Tableau n° 10: Composition chimique de l'huile essentielle de *Cinnamon cassia*

Nbr	TR	IK	Composant	Pourcentage %
1	8,2	898	styrene	0,020
2	9,69	923	Tricyclene	0,010
3	10,33	933	α-Pinene	1,082
4	11,37	950	Camphene	0,565
5	12,53	968	Benzaldehyde	0,255
6	13,15	978	β -Pinene	0,326
7	15,84	1018	α -Terpinene	0,018
8	16,47	1027	para- cymene	0,094
9	16,73	1031	D-Limonene	0,335
10	16,98	1034	1,8-Cineole	1,030
11	18,83	1059	γ -Terpinene	0,033
12	20,77	1086	Terpinolene	0,042
13	22,06	1104	linalool	0,098
14	23,49	1123	Exo-fenchol	0,021
15	25,24	1147	Methylbenzofuran	0,084
16	25,58	1152	(Z)-Tagetone	0,011
17	26,09	1159	Trans- β -terpineol	0,011
18	26,86	1169	Hydrocinnamic Aldehyde	1,222
19	27,42	1177	Borneol	0,439
20	27,96	1184	Terpinen-4-ol	0,469
21	28,66	1194	p-Cymen-8-ol	0,018
21	29,15	1201	α -Terpineol	0,988
22	31	1227	cis-cinnamaldehyde	0,701
23	32,57	1249	Cumin aldehyde	0,012
24	35	1284	(E)-cinnamaldehyde	87,816
25	40,61	1368	Eugenol	0,148
26	41,11	1375	α -Copaene	0,400
27	43,47	1412	cis- α -Bergamotene	0,055
28	43,92	1419	(E)-Caryophyllene	0,169
29	46,12	1454	(E)-Cinnamyl acetate	1,767
30	47,44	1475	γ -Gurjunene	0,035
31	48,91	1498	α -Muurolene	0,122
32	50,08	1518	δ -Cadinene	0,123
33	50,36	1523	cis-Calamenene,	0,097
34	51,54	1543	α -Calacorene	0,030
35	53,95	1583	Caryophyllene oxide	0,074
36	56,6	1630	1-epi-cubenol	0,151
37	56,93	1636	γ -Eudesmol	0,028
38	57,43	1644	Cubenol	0,040
39	57,6	1648	α -Muurolol	0,082
40	57,82	1651	α -Cadinol	0,057
41	59,15	1675	Cadalene	0,019
42	67,27	1827	Isopropyl myristate	0,050
	Total			99,144

4. Incorporation de l'HECC dans les fromages frais préparés

L'incorporation des HE avec d'autres conservateurs naturels, tels que les BL, peut améliorer leur pouvoir de conservation naturel tout en garantissant l'acceptation sensorielle des aliments (**Barros et al., 2012**). Cependant, toutes les HE ne peuvent pas être regroupées avec des isolats lactiques, car il a été démontré que certaines d'entre eux provenant de plantes réduisent le taux de survie de ces germes (**Badia et al., 2020**).

Les résultats des tests d'antagonisme ainsi que la détermination du type d'activité de HECC sur les BL constitutives les levains lactiques utilisés dans la préparation des échantillons des fromages non affinés peuvent être illustré dans le **Tableau n° 11**.

Tableau n° 11: L'activité antimicrobienne et les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'HECC contre les BL des levains

BL indicatrice	Activité antagonisme	CMI	CMB
<i>Lb.plantarum</i> LbD 29	11,25±0,35mm	0,25%±00	0,25%±00
<i>En.faecium</i> EnJ65	14±1,41mm	0,25%±00	0,25%±00
<i>En.faecium</i> EnJ70	9,75±1,06mm	0,25%±00	0,25%±00

Les données ont montré des résultats inhibiteurs modestes pour les trois BL testées, avec une concentration bactéricide minimale de 0,25 %, par conséquent une dose de 0,125 % d'HE a été introduite dans nos échantillons de fromages pour empêcher le starter lactique d'être altéré. Les cultures starter FM4 et FM5 ont été soumis à l'activité inhibitrice de cette concentration de HECC pour assurer cette décision, et les résultats ont été négatifs.

5. Contrôle Physico-chimique des fromages frais préparés sans et avec HECC

5.1. Composition Chimique des échantillons préparés

Au cours de différents jours de stockage (0, 7, 14 et 21) à +4C° la composition chimique des deux fromages fabriqués *in vitro* et traités ou non avec l'HECC a été étudiée et traduite en pourcentage donné dans la **Figure n°38**. La teneur en matière grasse, extrait sec, teneur en azote total et en matière minérale de la matière primaire (lait de vache) ont été également démontrés.

D'abord, pour la matière de base, plusieurs recherches antérieures ont évalué la composition de lait de vache afin d'étudier sa capacité dans la préparation des produits fermentés, telles que celles d'**Azizkhani et al., (2021)**, et de **Vargas-Bello-Pérez et al.,**

(2021), ont trouvé des valeurs presque identiques aux nôtres. Ces valeurs ont été significativement modifiées en peu de temps sous l'effet des ferments lactiques FM4 et FM5, avec un changement significatif dans l'ensemble des valeurs de la composition. La teneur en matières grasses passe de 3,90 % à 24,80 % et 25,02 %, la teneur en solides passe de 38,57 % à 37,60 % et 51,30 %, la matière minérale passe de 0,43% à 3,11 % et 1,5 %, et la teneur totale en azote passe de 0,61 % à 3,76 % et 3,85 % et 3,85 % et de protéines brutes de 3,81 % à 23,50 % et 24, 10 %. Contrairement à **Terzic-Vidojevic et al., (2015)**, qui ont obtenu des valeurs relativement faibles par rapport aux résultats obtenus dans le travail actuel, que ce soit pour le fromage blanc mariné; la teneur en matière sèche était 47,04 % \pm 0,02 à 47,30 % \pm 0,01, la teneur en protéines de 20,60 % \pm 0,88 à 17,21 % \pm 0,56 et du matière grasse de 20,09 % \pm 0,26 à 26,64 % \pm 0,19 ou des fromages frais à pâte molle composés de 14,60 % \pm 0,01-17,99 % \pm 0,01 de matière sèche 8,52 % \pm 0,96 11,58 % \pm 1,14 de protéines et 0,08 % \pm 0,01-0,58 % \pm 0,04 de matières grasses, et **Benheddi et Hellal (2019)** ont obtenu des valeurs inférieures aux nôtres dans leur fromage frais "Jben" créé en synergie d'enzymes isolées de fleurs de *Cynara cardunculus L.* et de souches mixtes de BL ; divers travaux publiés sont en accord avec nos données.

A titre d'exemple **Ortiz-Estrada et al., (2020)** ont montré que la valeur des teneurs en protéines, matières grasses et cendres dans les fromages artisanaux mexicains préparés avec du lait de vache étaient respectivement "24–28 %, 36–43 % et 2,4–4,1 %". Le fromage Algerian artisanal affiné Bouhazza a été aussi évalué par **Medjoudj et al., (2020)** sa composition physico-chimique composé majoritairement de matière sèche (41,30% \pm 8,30), matières grasses (29,64 % \pm 6,76) et cendres (3,67 % \pm 1,91).

A partir de la **Figure n° 38**, il est évident que l'ajout de HECC aux échantillons de fromage a eu une influence sur toutes les valeurs des composés, cependant il n'y avait pas de différences significatives entre les échantillons avec et sans cette HE ($p < 0,05$) et ceci au cours des différentes jours de conservation à froid.

Résultats et Discussion

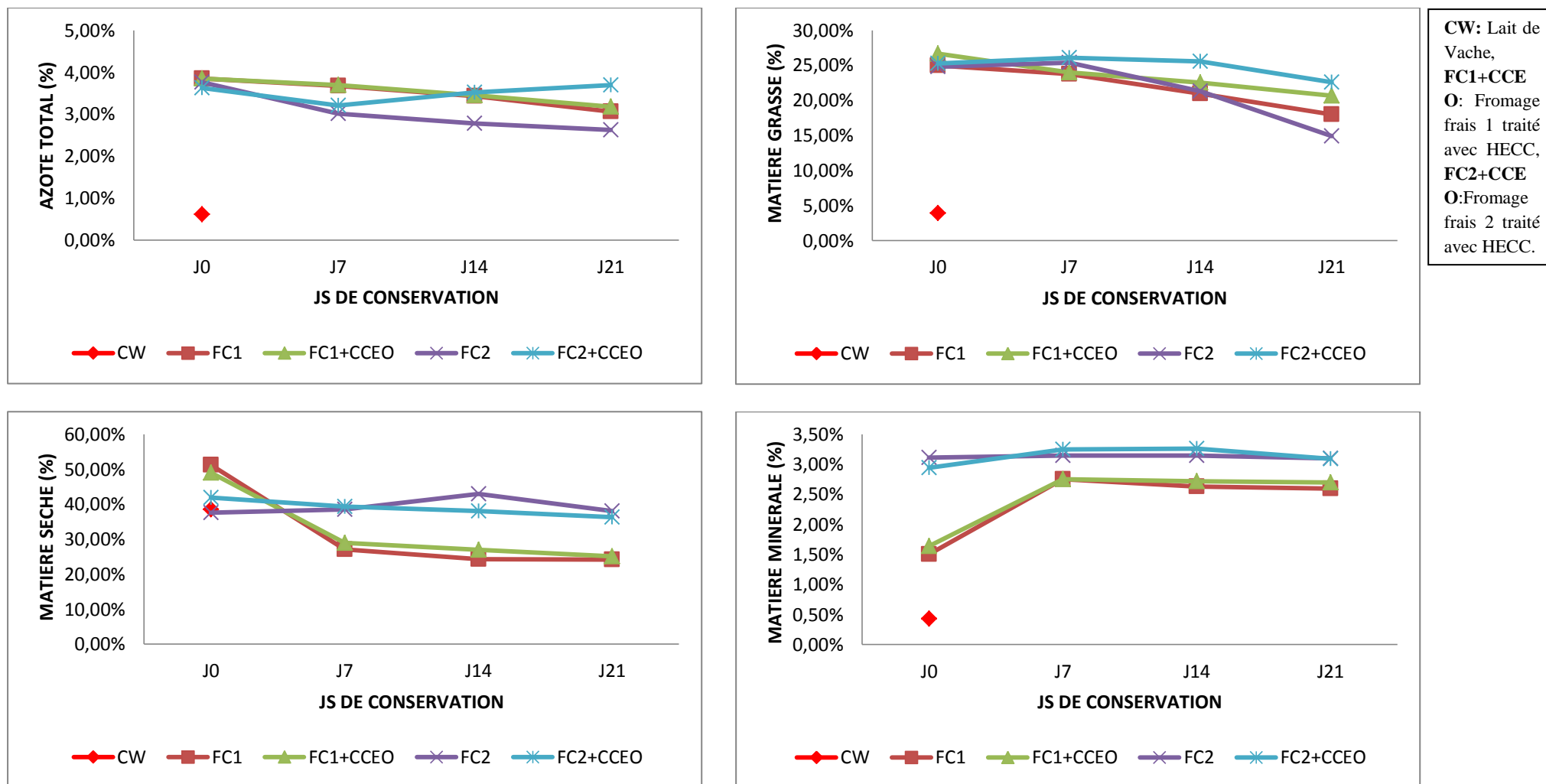


Figure n° 38: Composition chimique du lait de vache, de fromages frais nature et de fromages frais additionnés d'HECC

Les teneurs en divers composés du FC2 sans HE, qui ont été générés par le levain constitué par deux souches appartenant à l'espèce *En. faceium* a présenté une baisse significative par rapport à FC2 + HECC après 14 jours de stockage. Cela était clairement noté dans l'analyse des composantes principale "ACP" de divers composants des fromages créés (**Figure n°39**), où les échantillons FC2 de 14 et 21 jours ont été classés significativement plus bas que les autres échantillons en termes de qualité des composants cibles. Cela peut s'expliquer par le fait que seule une faible quantité de composés phénoliques a été détectée dans les fromages, ce qui implique que l'activité antioxydante des composés phénoliques « natifs » du fromage est très faible et qu'elle se détériore (**Ritota et Manz, 2020**). Une stratégie pour augmenter la teneur en polyphénols des fromages a été employé en ajoutant une plante naturelle ou ses dérivés, en partant du fait que les plantes ont souvent un grand nombre de composés phénoliques, qui se distinguent par leur activité retardatrice l'autooxydation de tout matériau présent en présence d'oxygène (**Amorati et Valgimigli, 2018 ; Fiescu et al., 2018**). En conséquence, des scores cohérents des produits chimiques recherchés dans la présente étude ont été traduits positivement par l'ajout de HECC dans les fromages. L'importance de ces résultats a été expliquée par **Singh et al., (2021)**, qui ont trouvé que l'activité positive créée par *Cinamon cassia* était directement liée à son pouvoir antioxydant, qui pourrait être dû à la teneur en cinnamaldéhyde, qui représente 84,45% de la composition chimique dans leur échantillon, ou l'effet combiné des divers composés bioactives, qui donne effectivement le proton aux radicaux DPPH.

L'ACP, qui s'appuie sur les résultats obtenus pour les variables teneurs en azote total, teneurs en protéines brutes, teneurs en matière sèche, humidité, matière grasse et teneurs en minéraux, a permis de classer les échantillons de fromages en fonction de leur qualité et ses composants cibles au cours de 21 jours de stockage. Les deux facteurs F1 et F2 ont été choisis dans la première partie sur la base des valeurs propres de la matrice de corrélation acquise par l'ACP, où la variance totale à 100 % a été distribuée selon six valeurs propres et une chute d'au moins 25 % entre la deuxième et troisième position a été notée. Le modèle F1 et F2 utilisés a présenté respectivement 54,284% et 35,117 % de variabilité et, collectivement, ils ont représenté 89,40 % de la variance. La projection des points représentant les échantillons est illustrée dans la **Figure n° 39** à l'aide du plan (F1 et F2).

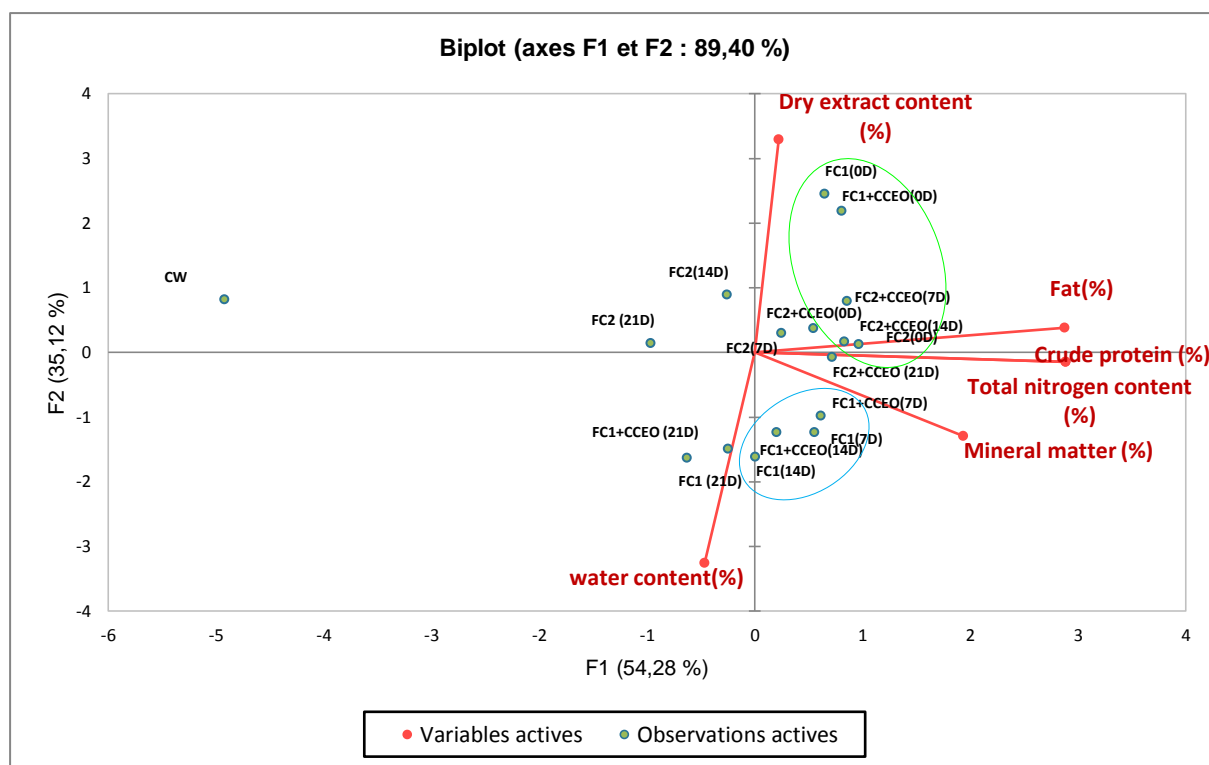


Figure n°39 : Analyse en Composantes principales pour les échantillons de fromages frais préparés traité ou non par HECC pour les variables teneur en Azote totale, teneur en protéine brute, teneur en matière sec, humidité, teneur en matière grasse et en matière minérale.

Selon la proximité de l'extrémité, les facteurs variables sont bien représentés dans le plan factoriel, la même observation a été signalée pour les différents échantillons étudiés. A l'exception de FC 2 (14D), FC2 (21D), FC1 (21D) et FC1 + CCEO (21D), les fromages ont formé un groupe dans l'axe positif des variables examinées, ils étaient ceux avec des valeurs puissantes d'azote total, de protéines brutes, de matière sèche et de matières grasses. Parmi eux seuls les fromages FC1 (7D), FC1 + CCEO (7D), FC1 (14D) et FC1 + CCEO (14D) avaient le pourcentage le plus élevé de matière minérale et ont donc été classés dans un groupe distinct. La valeur des composés du fromage pendant le stockage est le résultat des produits métaboliques acides des BL, selon **Barukcic et al., (2020)**. Comme suite, l'augmentation de la teneur en minéraux peut être liée à l'utilisation de matières grasses et à la production d'acides gras libres, ainsi que la dégradation des protéines et la diffamation des acides aminés, qui sont tous les deux des processus de maturation plutôt que des propriétés de plusieurs fromages, et une condition qui favorise l'absorption des minéraux, en particulier du calcium, qui est contenu dans les ponts Ca-phosphate de la caséine micelles.

A partir de la **Figure n°39**, la matière primaire (CW) a été trouvée avec un grand écart en comparaison avec les échantillons préparés, cela est dû à ses valeurs faibles enregistrées.

À la fin de cette analyse, les fromages fabriqués par les levains lactiques *in vitro* additionnés ou non par HECC, FC2 (0D), FC1 (0D), FC1+CCEO (0D), FC2+CCEO (7D) et FC2+CCEO (14D) ont manifesté la composition chimique la plus intéressante.

5.2. pH et acidité titrable

L'acidité intrinsèque du lait est due à sa teneur en caséine de 80%, cependant la baisse du pH peut être induite chimiquement par la formation de gels acide-caséine ou simplement par fermentation avec les BL (**Kiani et al., 2010**). L'abaissement du pH ainsi que la génération d'acide lactique dans les fromages fabriqués par les levains lactiques pendant les trois semaines de stockage ont été illustrées dans la **Figure n°40**. Les valeurs de pH enregistrées étaient inférieures à ceux de **Benheddi et Hellal (2019)** et **Tadjine et al., (2020)**, alors qu'elles étaient similaires à celles obtenues par **Sánchez-Gamboa et al., (2018)** pour le fromage Chihuahua mexicain et le fromage Herzégovine étudiés par **Vladimr et al., (2020)**.

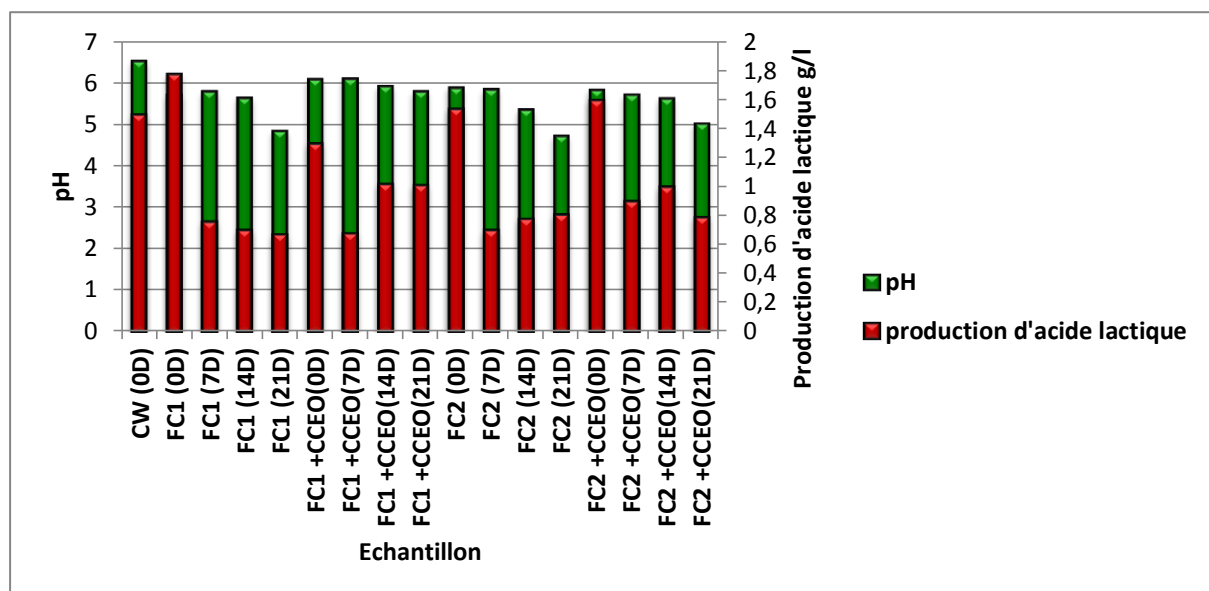


Figure n° 40: Valeurs de pH et d'acide lactique des fromages élaborés pendant les 21 jours de conservation

Le pH et les niveaux d'acide lactique dans les échantillons de fromage qui n'ont pas été traités avec HECC ont considérablement diminué durant le stockage. Les fromages traités par HECC ont maintenu des valeurs constantes (**Figure n°40**). La stabilité des valeurs d'acidité des échantillons enrichis en huiles essentielles peut être liée à leurs effets antibactériens contre

les bactéries d'altération affectant les cultures de démarrage lactique, où la faible valeur du pH pendant la période de stockage résulte principalement de la fermentation du lactose en l'acide lactique avec du BL viable **Yangilar et Yildiz (2018); Zolfaghari et Ansar (2020)**.

6. Contrôle Microbiologique des fromages frais préparés sans et avec HECC

La conservation des aliments est centrée sur la recherche d'aliments à haute valeur nutritionnelle et à durabilité microbiologique (**Devlieghere et al., 2004**). Selon la réglementation algérienne, le lait de vache non pasteurisé et les fromages produits sont testés pour le pathogène *E. Coli*, *Staphylococcus* à coagulase positive, *Salmonella* sp. et *Listeria monocytogenes*.

Au cours des dernières décennies, *E. coli* a été associée à un certain nombre d'épidémies liées à une variété d'aliments prêts à manger, y compris la viande, les fruits de mer, les produits laitiers et les légumes. Les aliments contaminés par *E. coli* pathogène peuvent provoquer une diarrhée aqueuse qui peut être chronique, des vomissements, ainsi que des complications plus graves telles que la colite hémorragique, l'insuffisance rénale terminale et, dans certains cas, le syndrome hémolytique et urémique (**Munekata et al., 2020**).

Staphylococcus aureus (*staphylococcus* à coagulase positive) qui produisent des entérotoxines, en particulier est une bactérie pathogène liée aux grandes épidémies d'intoxication alimentaire, principalement causées par des produits carnés contaminés. Et qui représente de sérieux problèmes dans le secteur alimentaire dans de nombreux pays, pour cela de nombreux efforts pour lutter contre la contamination des aliments par cette bactérie *sont* en établis (**Barros et al., 2012**).

Salmonella sp. a été détectée dans presque tous les produits laitiers, en particulier le fromage et les produits liés au fromage (**Laslo et al., 2018**). Responsable de fièvre, des coliques abdominales, des diarrhées et des vomissements qui sont des symptômes majeurs. Cette maladie préoccupe la santé publique, en particulier chez les enfants et les personnes âgées, ainsi que chez les immunodéprimées, qui peuvent présenter des tableaux plus graves (**Agregán et al., 2021**).

Du fait de la production de biofilms, *L. monocytogenes*, bactérie Gram-positive hautement pathogène, possède un pouvoir de résistance élevé. Sa capacité à survivre et à proliférer dans une large gamme de matrices alimentaires est due à sa tolérance aux conditions physico-chimiques défavorables. Cette bactérie est la cause la plus fréquente de listériose, une maladie

qui peut provoquer une septicémie, une méningo-encéphalite, un avortement ou une infection néonatale avec un taux de létalité élevé (20-30 %) même en l'absence de résistance aux ATB (**Amajoud et al., 2018**).

En raison des problèmes majeurs que ces bactéries pathogènes ont générés, la législation algérienne a imposé des contrôles stricts et des limites sur leur présence dans le lait et le fromage. Dans le journal officiel n° : 39 du 02/07/ 2017 pour le lait cru et les fromages à base de lait ou de lactosérum pasteurisé, un tableau montre les limites d'acceptabilité de ces germes.

Contrairement au lait de vache qui a été contaminé par *E.coli* à raison de $3,8 \times 10^2$ UFC/mL, mais selon les normes Algérienne ($m = 5 \times 10^2$ et $M = 5 \times 10^3$), aucune identification d'aucun de ces microorganismes pathogènes n'a été retrouvée dans les fromages traités avec ou sans HE au cours de 21 jours de stockage. Nos articles sont sains et ont une grande douceur microbiologique, selon les résultats de notre analyse.

La force antibactérienne élevée des souches lactiques qui composent les levains de fabrication permet d'expliquer ces résultats, comme le montre la **Figure n°27** qui résume leur pouvoir antagoniste. Ces résultats sont comparables à ceux de **Ortolani et al., (2010)** ; **Castro et al., (2018)** ; **Sindi et al., (2020)**, qui ont démontré la capacité des BL autochtones du lait cru et du fromage à pâte molle, du fromage de chèvre Coalho et du kéfir à combattre ces bactéries pathogènes. Parce que les BL sont présentes dans tous les aliments fermentés les produits laitiers tels que le fromage à pâte molle et dure ont une longue histoire d'utilisation sûre, elles sont le meilleur choix pour une utilisation en tant que micro-organismes protecteurs (**Kasra-Kermanshahi et al., 2015**).

Le pouvoir antagoniste des HECC, comme le montrent divers articles publiés **Oussalah et al., (2007)** ; **de Oliveira et al., (2012)** ; **Thielmann et al., (2019)** ; **Nematollahi et al., (2020)**, pourrait être la clé de la stérilité microbiologique des fromages frais traités avec cette HE. Cela pourrait également être attribuable à la force d'antagonisme combiné des starters lactiques et l'HECC.

L'effet synergique de l'activité antimicrobienne des BL et des HE a été démontré dans quelques études antérieures, comme **Barrous et al., (2012)**, qui ont montré l'apparition d'un effet inhibiteur puissant de l'application combinée d'HE d'*Origanum vulgare L.* et des souches lactiques contre *S.aureus*. Le potentiel antibactérien accru de cette combinaison, selon **Lin et**

Résultats et Discussion

al., (2004), est dû à la rupture de la membrane cellulaire causée par l'HE, ce qui rend les bactéries plus sensibles aux conditions acides causées par la formation d'acides organiques par les BL. Les bactériocines et les HE en association ont également été démontrées utiles selon **Turgis et al.**, (2012). Cette stratégie, selon de nombreux auteurs tels **Ndoti-Nembe et al.**, (2015) et **Iseppi et al.**, (2020), est une approche promoteur pour lutter contre les bactéries comme *L. monocytogenes* résistantes aux conditions hostiles induites par les conservateurs courants.

Pendant la période de rétention, l'influence de HECC sur le BL des échantillons a été évaluée. Le taux de survie des BL dans tous les échantillons préparés a rapidement diminué dans les 7 jours de préservation comme le montre la **Figure n°41**. Le taux de survie a augmenté après 14 jours. L'intérêt est que, à l'exception du FC2, le taux de survie du BL dans le même fromage traité ou non traité avec HECC était presque identique au cours des 21 jours de stockage. Le nombre logarithmique initial de BL pour les différents échantillons variait de 9,25 log (UFC/g) et 9,17 log (UFC/g), avec des valeurs allant de 8,08 log (UFC/g) à 8,93 log (UFC/g) tout au long le cours de 21 jours.

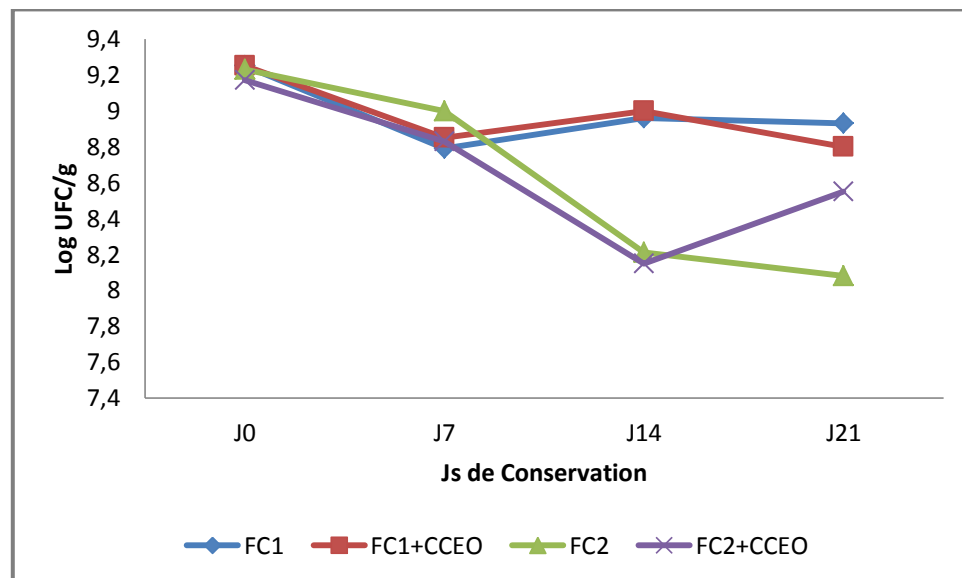


Figure n°41 : Données expérimentales et courbes de croissance ajustées de BL dans les fromages préparés conservée à 4 °C additionnée ou non de l'HECC

En comparaison avec les résultats de **Souza et al.**, (2016), qui ont étudié les effets inhibiteurs de l'HE d'*Origanum vulgare L* sur le starter mésophile composé de BL (*Lc. lactis* subsp. *Lactis* et *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) dans Brazilian Coalho Cheese Systems et les conclusions de **Badia et al.**, (2020), qui ont étudié l'influence des HEs d'origan et de romarin sur la croissance des BL dans les saucisses toscanes réfrigérées sous vide, le taux de survie

des BL dans cette étude était plus important . En revanche, l'ajout de HECC à nos échantillons de fromage, à savoir FC2 + CCEO du 21 jours de stockage au froid, a généré un cadre dans lequel nous avons pu voir une compatibilité logarithmique intéressante de BL par rapport au FC2 seul. Dans la même ligne et sur la base des produits chimiques biologiquement actifs des écorces d'orange, **Jimborean et al., (2016)** ont découvert que le l'HE d'orange intégré dans le yaourt préparé *in vitro* favorisait la survie des BL.

7. Contrôle Sensorielle des fromages frais préparés sans et avec HECC

Les caractéristiques sensorielles d'un produit sont cruciales pour déterminer s'il sera accepté ou non. La **Figure n°42** illustre les qualités sensorielles des fromages frais additionnés ou non d'HECC pendant un stockage au froid de 3 semaines. Les scores sensoriels des échantillons de fromage sans HE le premier jour de production variaient de 3 à 10, avant de passer à des valeurs comprises entre 8 et 10 après une semaine de stockage dans la deuxième scène d'égouttage, comme le montre la **Figure n°42**. Le premier jour de stockage, les panélistes ont attribué le score le plus élevé au FC2 et au septième jour de stockage, ils ont attribué les scores les plus élevés aux deux fromages qui n'avaient pas été traités avec HE. Ceci est la conséquence du métabolisme bactérien, qui reflète directement sur la composition chimique des produits finaux et, par conséquent, leur acceptabilité sensorielle.

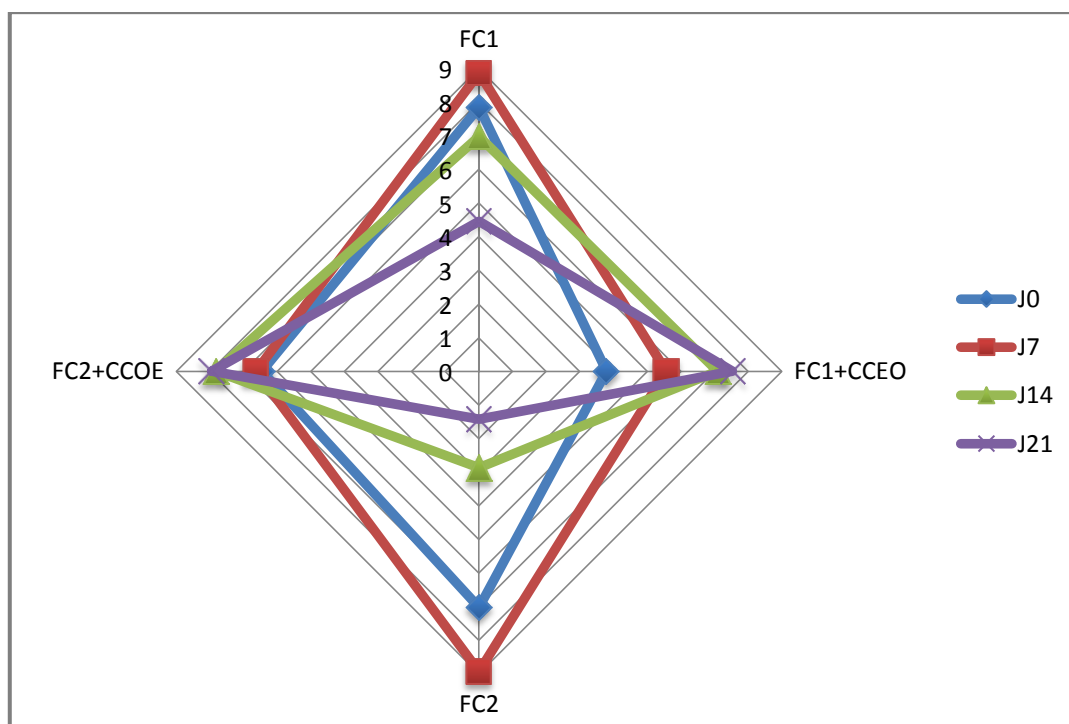


Figure n° 42: Scores de l'acceptabilité générale des fromages fabriqués avec les levains lactiques additionnés ou non avec HECC

Résultats et Discussion

La texture de FC1 a été décrite comme « lisse et régulière » dans la majorité des cas de dégustation, alors que la texture de FC2 a été décrite comme « rugueuse et irrégulière ». Pour les fromages non traités aux HE, le parfum et l'odeur ont pris les caractéristiques du métabolisme lactique et de la matière primaire, avec un goût de yaourt et de lait frais et un arôme puissant. Les fromages frais avec HE ont reçu la saveur « doux et épicé » par les dégustateurs. Les fromages non traités ont présenté des défauts d'amertume après 14 jours de stockage, tandis que les fromages traités avec l'HECC ont conservé leur saveur épicée avec un goût très court pour la plupart des dégustateurs. Dans toutes les observations, la couleur des fromages sans HE était blanchâtre, alors que l'ajout d'HE rendait la teinte blanche crème (Figure n°43).

En raison du changement de couleur après 14 jours de stockage, la dégustation était limitée et les notes d'acceptation étaient basées uniquement sur les caractéristiques visuelles et aromatiques.

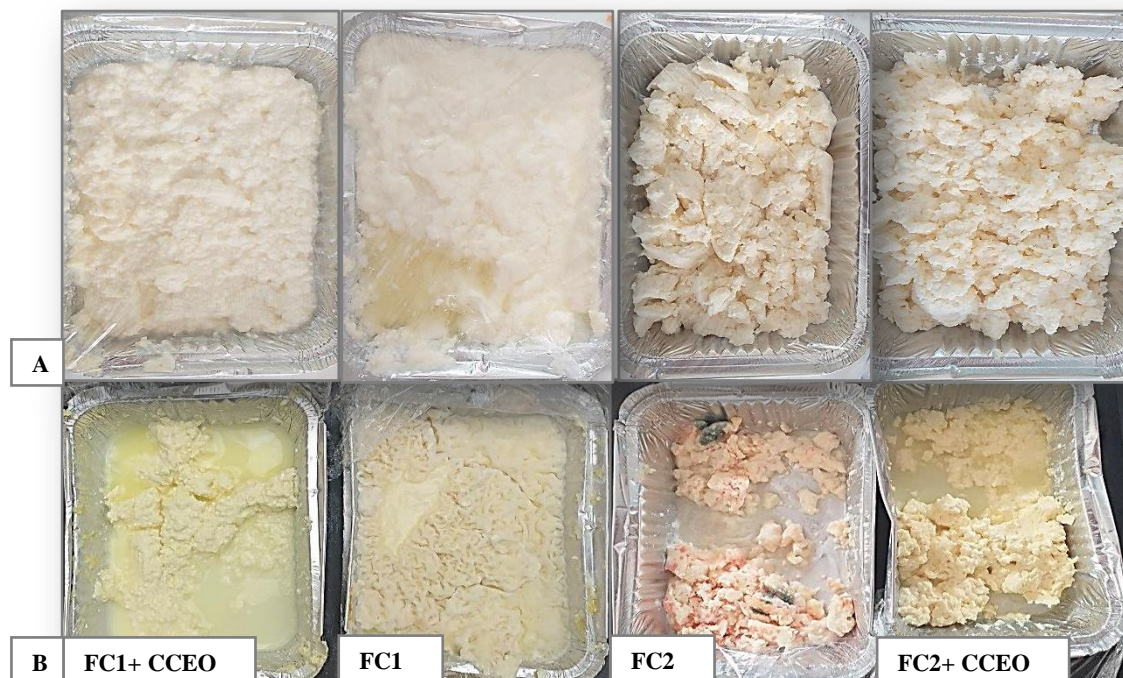


Figure n°43 : Aspect macroscopique des fromages frais préparés, **A** : Le jour de préparation, **B** : Après vingt-un jours de stockage

Après 14 jours de stockage à 4°C, le FC2 généré par le levain FM5 a connu une diminution significative ($P < 0,05$) des scores d'évaluation jusqu'à 1 avec un changement de couleur (Figure n°43), tandis que le FC1 a maintenu un score de 7 sans changement significatif de couleur. D'une part **Ardalanian et Fadaei (2018)** ont lié la baisse des scores sensoriels après stockage à la prolifération incontrôlée de micro-organismes tels que les

Résultats et Discussion

levures, qui ont progressivement produit des composés conférant au produit des caractéristiques inappropriées. La capacité antagoniste restreinte combinée des deux souches d'*En.faceium* à lutter contre les différents microorganismes d'altération et peut expliquer les valeurs basses dans le FC2 préparé par ces deux souches (FM5). En revanche, **Ehsani et al., (2016)** ont constaté que la baisse des scores organoleptiques pendant le stockage pourrait être due aux processus lipolytiques et protéolytiques des micro-organismes, même le starter lactique avec une production des acides organiques en continu.

Les échantillons enrichis avec HE ont obtenu des scores de qualité plus élevés après 14 jours de stockage que l'échantillon témoin contenant simplement des ferments lactiques ; le produit le plus acceptable était FC2 + CCEO, qui a reçu un 8 ; néanmoins, FC1 + CCEO a reçu un 7,5. Les résultats sensoriels de ces derniers pourraient être liés au pouvoir antibactérien de HECC, qui empêche la propagation des micro-organismes d'altérations pendant le temps de stockage. De manière surprenante, même après 21 jours de stockage, la composition chimique des fromages contenant de l'HE reste constante, comme indiqué ci-dessus, de même que les caractéristiques organoleptiques (**Figure n°38 et n°42**). La conclusion similaire a été faite par **Zhang et al., (2019)**, qui ont examiné les effets de l'ajout de 0,1 à 0,5% de HE de cannelle aux saucisses italiennes fraîches et les a trouvés bénéfiques. Cependant, **Selim (2011)** a affirmé que l'enrichissement de la feta le fromage avec de grandes concentrations d'HE de clou de girofle et d'arbre à thé, qui est nécessaire pour l'activité antibactérienne, a donné aux échantillons un fort contre-arôme. Selon **El-Sayed et Youssef (2019)**, l'utilisation des HE est principalement limitée à des concentrations élevées afin d'éviter d'altérer les qualités sensorielles majeures du produit. Dans le même concept le chocolat noir avec une faible teneur en HE de 0,25 % de *Cinnamome* sp. a obtenu la plus haute approbation des panélistes dans l'étude **Dwijatmoko et al., (2016)**.

La faible concentration de 0,125 % utilisée dans notre étude était un avantage de HECC en termes d'assurance de l'activité antibactérienne ainsi que la stabilité organoleptique des produits finaux, et les résultats étaient plus intéressants que dans les enquêtes précédentes.

Conclusion Générale et Perspectives

Conclusion Générale et Perspectives

Les aliments fermentés sont des aliments importants sur le plan nutritionnel qui ont des effets bénéfiques sur la sante humaine, en particulier ceux produits par des microorganismes comme les BL.

Les BL sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en exploitant leur pouvoir métabolique pour transformer les matières primaires, ainsi que pour prolonger la conservation des produits finaux en produisant des molécules bioactives avec un spectre d'activité contre les germes pathogènes et d'altération. De plus, leur capacité à produire des biomolécules est particulièrement utile dans l'industrie pharmaceutique.

La maîtrise de l'utilisation de ces bactéries pour la préparation d'aliments fermentés nécessite une connaissance préalable des principaux processus métaboliques, de leurs interactions avec les autres microorganismes et de leurs mécanismes de défense.

L'objectif principal de la thèse était d'isoler des BL à partir des produits laitiers fermentés artisanaux fabriqués dans des fermes des régions rurales de Tébessa, Souk-Ahras et Oum el-Bouaghi. Une fois isolées, ces bactéries ont fait l'objet d'une caractérisation de leurs pouvoirs technologiques et probiotiques dans le but d'obtenir des ferments lactiques performants et d'évaluer leurs effets sur la qualité des denrées laitières produites.

À partir de 87 échantillons de produits laitiers fermentés, 175 isolats répondant aux critères de bactéries lactiques ont été sélectionnés. Ils ont été attribués, sur la base des critères morphologiques et physiologiques, aux genres : *Lactococcus* spp. (56,58 %), *Enterococcus* spp. (11,62%), *Lactobacillus* spp. (25,58%) et *Pediococcus* spp. (6,20%).

Les résultats de l'étude des aptitudes technologiques ont montré que la production d'acide lactique s'est avérée importante avec une différence non significative ($P > 0,05$) de production entre les quatre genres en fonction du temps. L'acidité titrable était remarquable dans les cultures d'*Enterococcus* et de *Lactococcus* dans l'intervalle de 4 à 24 heures d'incubation, et dans les cultures de *Lactobacillus* et de *Pediococcus* après 48 heures d'incubation. La quantité d'acide lactique produite était respectivement comprise entre 2,1-5 g/l, 2-4,9g/l, 2-5g/l et 3,1-4,7 g/l pour les *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Lactococcus* après 2H de test, et ces valeurs sont passées respectivement jusqu' à 15,6g/l, 16g/l, 13,5g/l et 15,5g/l après 48H.

Conclusion Générale et Perspectives

Pour l'activité protéolytique, la majorité des isolats présentaient une activité variable selon le genre avec des zones de lyse entre 9 et 20 mm de diamètre, les genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* ont présenté des activités remarquables.

Quant à l'activité lipolytique, les isolats lactiques ont décomposé les substrats lipidiques de diverses manières. Les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Pediococcus*, se caractérisent par des niveaux d'activité avec une variabilité significative ($p < 0,05$) notamment entre les deux facteurs : concentration et nature des sources lipidiques; la source naturelle de lipides "huile d'olive" à des concentrations variables (1%, 3% et 5%) a présenté la plus grande activité qui se traduit par des zones claires allant de 8 à 19 mm. L'étude des autres aptitudes technologiques "texturants et aromatisants" ont démontré de bonnes fonctionnalités.

Bien que tous les isolats testés aient fourni des résultats intéressants, vingt-et-un d'entre eux ont montré un très fort potentiel technologique, essentiel dans l'industrie alimentaire. Les 21 isolats sélectionnés ont été codés comme suit : LbK126, LbJ19, LbK101, LbD108, LbJ1, LbD29, LbJ14, LbJ7, LbB123, LbZ124, PeJ138, EnJ65, EnJ70, EnB100, EnK104, EnK105, EnK107, EnD119, LcJ26, LcJ45, LcD135. Dans le même contexte, ces isolats ont montré des aptitudes probiotiques particulièrement importantes, avec une résistance remarquable aux circonstances hostiles telles que l'acidité et les sels biliaires.

Les deux genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* présentant la stabilité la plus élevée aux pH acides pendant les trois heures du test. La souche LbJ1 était la souche la plus résistante où des taux de survie dans l'ordre de 90,88%, 88,51% et de 89,89% ont été illustrés respectivement aux pH 1, 2 et 3. En plus, les *Lactobacillus* ont résisté à une activité biliaire excessive aux pH acides avec de bons taux de survie et une variabilité non significative ($p > 0,05$). Après 4 heures d'incubation à pH 2, 2,5 et 6,5, les isolats représentatifs de ce genre ont résisté avec des taux de survie de 70,01, 83,07 et 87,23 %, respectivement.

La plupart des BL isolées et sélectionnées dans notre travail étaient en plus capables de synthétiser des composés inhibiteurs à large spectre d'activité contre les bactéries Gram positives et Gram négatives y compris les SARM et les entérobactéries productrices des BLSE et des carbapénèmases, ainsi que contre les champignons unicellulaires et multicellulaires.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les surnageants natifs de 75 isolats lactiques avaient une activité antagoniste, parmi lesquels, 21 isolats ont montré un effet significatif,

Conclusion Générale et Perspectives

avec des pourcentages d'inhibition allant de 50 à 94,44 % et des zones d'inhibition allant jusqu'à 21 mm. L'isolat d'*Enterococcus* "EnB100" a montré une activité contre 17/18 souches indicatrices, tandis que l'isolat de *Lactococcus* "LcJ26" avait le plus grand diamètre. De plus, les isolats EnK105, EnB100 et LbD108 avaient une efficacité inhabituelle contre toutes les bactéries Gram- testées.

L'activité antifongique des BL a été testée contre une variété de champignons d'origine alimentaire et de levures d'origine clinique en utilisant respectivement la méthode de double couche et la méthode des puits. Ainsi, 21 isolats lactiques ont révélé un bon pouvoir antagoniste avec des zones variant de 5 à 30 mm de diamètre. L'isolat LbD29 avait le diamètre le plus élevé (30 mm) et les deux isolats d'entérocoques EnJ65 et EnJ70 avaient la plus haute efficacité, avec une inhibition de la croissance de 7 parmi les 9 moisissures et levures testés.

Les 21 isolats sélectionnées ont été ensuite identifiés comme : *Lactobacillus plantarum* (cinq souches), *Lb.brevis* (une souche), *Lb. paracasei* (trois souches) et *Lb.reuteri* (une souche), *Pediococcus pentosaceus* (une souche), *Enterococcus faecium* (cinq souches), *En.durans* (deux souches), *Lactococcus lactis* (trois souches, dont deux sont attribuées à la sous-espèce *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*). Ils ont été soumis à des tests d'interaction pour voir les quelles cohabitent en groupes pour former des ferments mixtes.

Ainsi, douze ferments mixtes, FM1 jusqu'à FM12, ont été générés et testés pour leurs aptitudes technologiques et les interactions entre les deux souches constitutives. Pour la fabrication du fromage frais, deux ferments, FM4 et FM5 ont été choisis, comme les plus technologiques par rapport aux autres FM, sur la base des résultats de pouvoir acidifiant ainsi que ceux décrits dans la carte Thermique après évaluation statistique.

Les deux ferments ont permis de fabriquer deux types de fromage. Les résultats de l'analyse physicochimique de ces échantillons ont révélé que les valeurs de pH étaient comprises entre 5,71 et 5,9 dans le premier jour de production et entre 4,85 et 4,73 dans le 21^{ème} jour de conservation pour les fromages 1 et 2 respectivement. En parallèle, la production de l'acide lactique était entre 1,78 et 1,54 g/l dans le premier jour de production, et entre 0,67 et 0,81 g/l dans le 21^{ème} jour de stockage pour les fromages 1 et 2 respectivement. Pour les composants chimiques des fromages préparés tels que les teneurs en azotes ou en acide gras, les résultats révélés sont intéressants par rapport à d'autres études précédentes, et

Conclusion Générale et Perspectives

pour définir le fromage avec la meilleure composition, un test statistique en composantes principales "ACP" a été réalisé.

Aux différents jours de stockage, l'analyse bactériologique des fromages fabriqués a été réalisée selon les journaux officiels Algériens et les résultats ont révélé une stérilité absolue. L'étude sensorielle a montré que les deux fromages ont différents niveaux d'acceptabilité avec des saveurs diverses, ainsi que des descriptions sensorielles variables liées à chaque échantillon.

Sur la base de ces résultats, la fabrication de fromage frais par notre FM a eu un impact substantiel sur la composition du lait de vache utilisé comme ingrédient principal. En conséquence, les produits métaboliques des BL sont responsables de la valeur des composants chimiques du fromage pendant la conservation.

Cependant, les valeurs de pH et d'acidité Dornic, ainsi que la composition chimique des échantillons de fromage, ont été significativement diminuées après 14 jours de stockage.

L'inclusion d'huile essentielle de *Cinnamom cassia* a été développée pour prolonger la durée de conservation des fromages fabriqués.

En conclusion, l'étude des isolats lactiques a révélé des qualités technologiques et probiotiques pertinentes, qui peuvent être exploitées pour améliorer la qualité organoleptique du produit tout en inhibant la croissance des micro-organismes contaminants. Ainsi, notre étude indique l'importance des niches écologiques que remplissent les aliments fermentés artisanalement qui constituent un outil de sélection des souches performantes.

Perspectives


Les résultats de notre recherche ne sont que le début d'une enquête supplémentaire ; nombreux aspects peuvent donc être abordés :

- * Identification moléculaire approfondie des souches lactiques sélectionnées;
- * Analyse génétique du système plasmidique;
- * Caractérisation des molécules bioactives produites par les souches de notre collection;

Conclusion Générale et Perspectives

- * Détermination des concentrations minimales inhibitrices des composés antimicrobiens générés et évaluation de l'impact des conditions nutritionnelles et physicochimiques sur leur synthèse;
- * Optimisation de la production des produits laitiers par les ferments mixtes autochtones;
- * Etude de la stabilisation de ces ferments dans les procédures industrielles de fabrication;
- * Utilisation d'autres extrait bioactifs des plantes médicinales comme conservateurs naturels tout en étudiant leur cyto-toxicité.

Références Bibliographiques

1.  Abdalrahim S., Abdel Naser A., Khider Z.M., Kamal El-Dean A.M., Hussein H. Ahmad A.I and Elbanna K, (2019). Phenotypic and Genotypic Characterization of Exopolysaccharide Producing Bacteria Isolated from Fermented Fruits, Vegetables and Dairy Products, Journal of Pure and Applied Microbiology. 13(3):1349-1362. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.3.06>.
2. Abd Alsaheb, R. A., Aladdin, A., Othman, N. Z., Abd Malek, R., Leng, O. M., Aziz, R., & El Enshasy, H. A. (2015). Lactic acid applications in pharmaceutical and cosmeceutical industries. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(10), 729-735.
3. Abdelbasset, M., & Djamila, K. (2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk “Raïb”. African Journal of Biotechnology, 7(16).
4. Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2011). Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits. Journal of biotechnology, 156(4), 286-301.
5. Abeijon Mukdsi, M. C., Maillard, M. B., Medina, R. B., & Thierry, A. (2018). Ethyl butanoate is synthesised both by alcoholysis and esterification by dairy lactobacilli and propionibacteria. LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, 89, 38-43.
6. Abouloifa, H., Rokni, Y., Bellaouchi, R., Hasnaoui, I., Gaamouche, S., Ghabbour, N., ... & Asehraou, A. (2020). Technological properties of potential probiotic *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermenting green olive. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences, 9(5), 884-889
7. Adeniyi, B. A., Adetoye, A., & Ayeni, F. A. (2015). Antibacterial activities of lactic acid bacteria isolated from cow faeces against potential enteric pathogens. African health sciences, 15(3), 888-895.
8. Adesulu-Dahunsi, A. T., Sanni, A. I., & Jeyaram, K. (2021). Diversity and technological characterization of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Nigerian traditional fermented foods. Food Science and Technology, 140, 110697.
9. Adjoudj, F., Guessas, B., Spano, G., Capozzi, V., & Kihal, M. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of *Lactobacilli* and *Pediococ-ci* isolated from traditional Algerian fermentation products. South Asian Journal of Experimental Biology, 10(2), 95-103.
10. Afrin, S., Akter, S., Begum, S., & Hossain, M. N. (2021). The Prospects of *Lactobacillus oris* as a Potential Probiotic With Cholesterol-Reducing Property From Mother's Milk. Frontiers in Nutrition, 8, 64
11. Aguirre, M., & Collins, M. D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. Journal of Applied Bacteriology, 75(2), 95-107.
12. Agregán, R., Munekata, P. E., Zhang, W., Zhang, J., Pérez-Santaescolástica, C., & Lorenzo, J. M. (2021). High-pressure processing in inactivation of *Salmonella spp.* in food products. Trends in Food Science & Technology, 107, 31-37.

13. Akabanda, F., Owusu-Kwarteng, J. R. L. K., Glover, R. L. K., & Tano-Debrah, K. (2010). Microbiological characteristics of Ghanaian traditional fermented milk product, Nunu. *Nature and Science*, 8(9), 178-187.
14. Akalu, N., Assefa, F., & Dessalegn, A. (2017). *In vitro* evaluation of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented Shamita and Kocho for their desirable characteristics as probiotics. *African Journal of Biotechnology*, 16(12), 594-606.
15. Akbli, M., Rhallabi, N., Mhand, R. A., Akssira, M., & Mellouki, F. (2016). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la sciure du bois de loupe de *Tetraclinis articulata* (Vahl) master du Maroc sur des souches d'origine clinique [Antibacterial activity of the essential oil of sawdust of root burl wood of *Tetraclinis articulata* (VAHL) master of Morocco against clinical strains]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 16(2), 314.
16. Alard, J. (2017). Sélection in vitro et in vivo de souches probiotiques ayant des propriétés bénéfiques contre l'inflammation, les infections et l'obésité (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
17. Alard, J., Lehrter, V., Rhimi, M., Mangin, I., Peucelle, V., Abraham, A. L., ... & Grangette, C. (2016). Beneficial metabolic effects of selected probiotics on diet-induced obesity and insulin resistance in mice are associated with improvement of dysbiotic gut microbiota. *Environmental microbiology*, 18(5), 1484-1497.
18. Al Atya, A. K., Belguesmia, Y., Chataigne, G., Ravallec, R., Vachée, A., Szunerits, S., ... & Drider, D. (2016). Anti-MRSA activities of enterocins DD28 and DD93 and evidences on their role in the inhibition of biofilm formation. *Frontiers in microbiology*, 7, 817.
19. Albayrak, Ç. B., & Duran, M. (2021). Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. *Food Science and Technology*, 150, 112053.
20. Alegría, Á., González, P., Delgado, S., Flórez, A. B., Hernández-Barranco, A. M., Rodríguez, A., & Mayo, B. (2016). Characterisation of the technological behaviour of mixtures of mesophilic lactic acid bacteria isolated from traditional cheeses made of raw milk without added starters. *International Journal of Dairy Technology*, 69(4), 507-519.
21. Álvarez-Cisneros, Y. M., & Ponce-Alquicira, E. (2018). Antibiotic resistance in lactic acid bacteria. In *Antimicrobial Resistance-A Global Threat*. IntechOpen.
22. Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., & Kuipers, O. P. (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(7), 2939-2951.
23. Alvarez, M., Rodriguez, A., Peromingo, B., Nunez, F., & Rodriguez, M. (2020). *Enterococcus faecium*: A promising protective culture to control growth of ochratoxigenic moulds and mycotoxin production in dry-fermented sausages. *Mycotoxin research*, 36(2), 137-145.

24. Amajoud, N., Leclercq, A., Soriano, J. M., Bracq-Dieye, H., El Maadoudi, M., Senhaji, N. S., ... & Abrini, J. (2018). Prevalence of *Listeria spp.* and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from food products in Tetouan, Morocco. *Food Control*, 84, 436-441.
25. Amorati, R., & Valgimigli, L. (2018). Methods to measure the antioxidant activity of phytochemicals and plant extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(13), 3324-3329.
26. Anagnostopoulos, D. A., Bozoudi, D., & Tsaltas, D. (2018). *Enterococci* isolated from *cyriot green* table olives as a new source of technological and probiotic properties. *Fermentation*, 4(2), 48.
27. Angelakis, E., & Raoult, D. (2010). The increase of *Lactobacillus* species in the gut flora of newborn broiler chicks and ducks is associated with weight gain. *PloS one*, 5(5), e10463.
28. AOAC. Official Methods of Analysis, 18th ed.; AOAC International: Washigton, DC. (2000).
29. Ao, X., Zhang, X., Shi, L., Zhao, K., Yu, J., Dong, L., ... & Cai, Y. (2012). Identification of lactic acid bacteria in traditional fermented yak milk and evaluation of their application in fermented milk products. *Journal of dairy science*, 95(3), 1073-1084.
30. Aouadhi C., Simonin H., Mejri S., Maaroufi A. (2013). The combined effect of nisin, moderate heating and high hydrostatic pressure on the inactivation of *Bacillus sporothermodurans* spores. *Journal of Applied Microbiology*, 115, 147–155. doi:10.1111/jam.12.
31. Arab L, Oudafal N, Ould L’Hadj T (2012) Étude *in vitro* de l’activité antibactérienne des huiles essentielles de *Ruta tuberculata*, *Ocimum basilicum* L. et *Urtica dioica* en combinaison avec la nisine sur des souches bactériennes pathogènes. Mémoire d’ingénieur d’État. Université Mouloud-Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.
32. Ardalanian, F., & Fadaei, V. (2018). Production of probiotic doogh enriched with red ginseng extract. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20(2), 277-287.
33. Atanassova, M., Choiset, Y., Dalgalarondo, M., Chobert, J. M., Dousset, X., Ivanova, I., & Haertlé, T. (2003). Isolation and partial biochemical characterization of a proteinaceous anti-bacteria and anti-yeast compound produced by *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* strain M3. *International journal of food microbiology*, 87(1-2), 63-73.
34. Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 139, 1-66.
35. Ayad, E. H., Verheul, A., Wouters, J. T., & Smit, G. (2000). Application of wild starter cultures for flavour development in pilot plant cheese making. *International Dairy Journal*, 10(3), 169-179.
36. Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D. B., Zhou, W. W., & Zheng, X. D. (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 17(8), 597-609.

37. Azizkhani, M., Saris, P. E. J., & Baniasadi, M. (2021). An *in-vitro* assessment of antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 406-415.
38. **B**ack, A. (2014). Amélioration de la production hétérologue de la bactériocine pédiocine chez *Lactococcus lactis* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
39. Badel, S., Bernardi, T., & Michaud, P. (2011). New perspectives for *Lactobacilli* exopolysaccharides. *Biotechnology advances*, 29(1), 54-66.
40. Badia, V., de Oliveira, M. S. R., Polmann, G., Milkiewicz, T., Galvão, A. C., & da Silva Robazza, W. (2020). Effect of the addition of antimicrobial oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on lactic acid bacteria growth in refrigerated vacuum-packed Tuscan sausage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(1), 289-301.
41. Balto, H. A., Shakoor, Z. A., & Kanfar, M. A. (2015). Combined effect of a mixture of tetracycline, acid, and detergent, and Nisin against *Enterococcus faecalis* and *Actinomyces viscosus* biofilms. *Saudi Medical Journal*, 36(2), 211.
42. Banwo, K., Sanni, A., & Tan, H. (2013). Technological properties and probiotic potential of *Enterococcus faecium* strains isolated from cow milk. *Journal of Applied Microbiology*, 114(1), 229-241.
43. Barragán-Menéndez, C., Gálvez-López, D., Rosas-Quijano, R., Salvador-Figueroa, M., Ovando-Medina, I., & Vázquez-Ovando, A. (2020). Films of Chitosan and *Aloe vera* for Maintaining the Viability and Antifungal Activity of *Lactobacillus paracasei* TEP6. *Coatings*, 10(3), 259.
44. Barrangou, R., Lahtinen, S. J., Ibrahim, F., & Ouwehand, A. C. (2012). Genus *Lactobacillus*. Lactic acid bacteria. *Microbiological and functional aspects*, 7.
45. Barros, J. C. D., Conceição, M. L. D., Gomes Neto, N. J., Costa, A. C. V. D., & Souza, E. L. D. (2012). Combination of *Origanum vulgare* L. essential oil and lactic acid to inhibit *Staphylococcus aureus* in meat broth and meat model. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 1120-1127.
46. Bartkiene, E., Bartkevics, V., Lele, V., Pugajeva, I., Zavistanaviciute, P., Zadeike, D., & Juodeikiene, G. (2019). Application of antifungal *Lactobacilli* in combination with coatings based on apple processing by-products as a bio-preservative in wheat bread production. *Journal of food science and technology*, 56(6), 2989-3000.
47. Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K. J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., ... & Rocha, J. M. (2020). Lactic acid bacteria isolation from spontaneous sourdough and their characterization including antimicrobial and antifungal properties evaluation. *Microorganisms*, 8(1), 64.
48. Barukčić, I., Ščetar, M., Marasović, I., Jakopović, K. L., Galić, K., & Božanić, R. (2020). Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *Journal of food science and technology*, 57(7), 2722-2731.

49. Bassi, D., Gazzola, S., Sattin, E., Dal Bello, F., Simionati, B., & Cocconcelli, P. S. (2020). Lactic acid bacteria adjunct cultures exert a mitigation effect against spoilage microbiota in fresh cheese. *Microorganisms*, 8(8), 1199.
50. Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F., & Obert, J. P. (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 661-765.
51. Bellil Y (2020). Caractérisation et évaluation des aptitudes technologiques des leuconostocs isolés du lait de chamelle Algérien et leurs applications. Thèse de doctorat en science. Université d'Oran. 226 pages.
52. Belguesmia, Y., Choiset, Y., Rabesona, H., Baudy-Floc'h, M., Le Blay, G., Haertlé, T., & Chobert, J. M. (2013). Antifungal properties of durancins isolated from *Enterococcus durans* A 5-11 and of its synthetic fragments. *Letters in applied microbiology*, 56(4), 237-244.
53. Benamara, R. N., Gemelas, L., Ibri, K., Moussa-Boudjemaa, B., & Demarigny, Y. (2016). Sensory, microbiological and physico-chemical characterization of Klila, a traditional cheese made in the south-west of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(41), 1728-1738.
54. Bendjeddou, K., Fons, M., Strocker, P., & Sadoun, D. (2012). Characterization and purification of a bacteriocin from *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* BMK2005, an intestinal isolate active against multidrug-resistant pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1543-1552.
55. Benheddi, W., & Hellal, A. (2019). Technological characterization and sensory evaluation of a traditional Algerian fresh cheese clotted with *Cynara cardunculus* L. flowers and lactic acid bacteria. *Journal of food science and technology*, 56(7), 3431-3438.
56. Benlahcen K, Mahamedi AE, Djellid Y, Sadeki IF, & Kihal M. (2017). Microbiological characterization of Algerian traditional cheese “Klila”. *Journal of purity, utility, reaction and environment*.;6(1):1–9.
57. Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L., & Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International dairy journal*, 11(4-7), 259-274.
58. Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.
59. Bettache, G., Fatma, A., Miloud, H., & Mebrouk, K. (2012). Isolation and identification of lactic acid bacteria from Dhan, a traditional butter and their major technological traits. *World Applied Sciences Journal*, 17(4), 480-488.
60. Bholra, J., & Bhadekar, R. (2019). *In vitro* synergistic activity of lactic acid bacteria against multi-drug resistant staphylococci. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 1-8.
61. Bhukya, K. K., & Bhukya, B. (2021). Unraveling the probiotic efficiency of bacterium *Pediococcus pentosaceus* OBK05 isolated from buttermilk: An *in vitro* study for cholesterol assimilation potential and antibiotic resistance status. *Plos one*, 16(11), e0259702.

62. Bin Masalam, M. S., Bahieldin, A., Alharbi, M. G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S. K., Harakeh, S. M., & Al-Hindi, R. R. (2018). Isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in Saudi raw and fermented milk. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
63. Biswas, K., Upadhayay, S., Rapsang, G. F., & Joshi, S. R. (2017). Antibacterial and synergistic activity against β -Lactamase-producing nosocomial bacteria by bacteriocin of LAB isolated from lesser known traditionally fermented products of India. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24(2), 87-95.
64. Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665.
65. Bintsis, T., Vafopoulou-Mastrojiannaki, A., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Robinson, R. K. (2003). Protease, peptidase and esterase activities by *Lactobacilli* and yeast isolates from Feta cheese brine. *Journal of Applied Microbiology*, 95(1), 68-77.
66. Bluma, A., & Ciprovica, I. (2015). Diversity of lactic acid bacteria in raw milk. *Research for rural development*, 1, 157-161.
67. Boubekri, K., & Ohta, Y. (1996). Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, El-Klila. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70(4), 501-505.
68. Boudalia, S., Boudebbouz, A., Gueroui, Y., Bousbia, A., Benada, M., Leksir, C., ... & Chemmam, M. (2020). Characterization of traditional Algerian cheese "Bouhezza" prepared with raw cow, goat and sheep milks. *Food Science and Technology*, 40, 528-537.
69. Boussekine, R., Merabti, R., Barkat, M., Becila, F. Z., Belhoula, N., Mounier, J., & Bekhouche, F. (2020). Traditional Fermented Butter Smen/Dhan: Current Knowledge, Production and Consumption in Algeria. *Journal of Food Research*, 9(4).
70. Bragason, E., Berhe, T., Dashe, D., Sørensen, K. I., Guya, M. E., & Hansen, E. B. (2020). Antimicrobial activity of novel *Lactococcus lactis* strains against *Salmonella Typhimurium* DT12, *Escherichia coli* O157: H7 VT- and *Klebsiella pneumoniae* in raw and pasteurised camel milk. *International Dairy Journal*, 111, 104832.
71. Cardamone, L., Quiberoni, A., Mercanti, D. J., Fornasari, M. E., Reinheimer, J. A., & Guglielmotti, D. M. (2011). Adventitious dairy *Leuconostoc* strains with interesting technological and biological properties useful for adjunct starters. *Dairy science & technology*, 91(4), 457-470.
72. Carbonnelle, B., Denis, F., Mannonier, A., Binon, G et Vargiver, K. (1990). *Bactériologie médicale. Techniques visuelles*, pp.23.
73. Carrizo, N. I., Torrez, J. A. C., Molina, F. R. E., Fornaguera, M. J., Martos, G. I., Bustos, A. Y., & Gerez, C. L. (2021). Selection and Performance of Antifungal Lactic Acid Bacteria in Corn Mini-Silos. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 1-12.


74. Castro, R. C. S., de Oliveira, A. P. D., de Souza, E. A. R., Correia, T. M. A., de Souza, J. V., & Dias, F. S. (2018). Lactic acid bacteria as biological control of *Staphylococcus aureus* in coalho goat cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 56(3), 431.
75. Chait, Y. A., Gunenc, A., Hosseinian, F., & Bendali, F. (2021). Antipathogenic and probiotic potential of *Lactobacillus brevis* strains newly isolated from Algerian artisanal cheeses. *Folia Microbiologica*, 1-12.
76. Chang, L. I. U., Zhang, Z. Y., Ke, D. O. N. G., Jian-Ping, Y. U. A. N., & Xiao-Kui, G. U. O. (2009). Antibiotic resistance of probiotic strains of lactic acid bacteria isolated from marketed foods and drugs. *Biomedical and Environmental Sciences*, 22(5), 401-412.
77. Chaves-López, C., Serio, A., Martuscelli, M., Paparella, A., Osorio-Cadavid, E., & Suzzi, G. (2011). Microbiological characteristics of kumis, a traditional fermented Colombian milk, with particular emphasis on enterococci population. *Food Microbiology*, 28(5), 1041-1047.
78. Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., & Zhao, G. (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S316-S330.
79. Chen, W. (2019). *Lactic Acid Bacteria. Omics and Functional Evaluation.*, Springer Singapore.
80. Chi, H., & Holo, H. (2018). Synergistic antimicrobial activity between the broad spectrum bacteriocin garvicin KS and nisin, farnesol and polymyxin B against gram-positive and gram-negative bacteria. *Current microbiology*, 75(3), 272-277.
81. Choisy C., Desmazeaud M., Guéguen M., Lenoir J., Schmidt J. L. et Tourneur C. (1997). Les phénomènes microbiens. In : *Le fromage* (Eck A. et Gillis J.C.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 377- 446.
82. Chuah, L. O., & Mao, Y. (2020). Stability assessment and improvement of a *Lactobacillus plantarum* mutant with low post-fermentation acidification characteristics. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 7898-7907.
83. Chukwudi, C. U. (2016). rRNA binding sites and the molecular mechanism of action of the tetracyclines. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(8), 4433-4441.
84. Clementi, F., & Aquilanti, L. (2011). Recent investigations and updated criteria for the assessment of antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. *Anaerobe*, 17(6), 394-398.
85. Colombo M., Todorov S.D., Carvalho A.F and Nero L.A. (2019). Technological properties of beneficial bacteria from the dairy environment and development of fermented milk with the beneficial strain *Lactobacillus casei* MRUV6. *Journal of Dairy Research*. 87(2): 259 - 262. doi.org/10.1017/S0022029920000308.
86. Costa, O. B. D., Del Menezzi, C. H. S., Benedito, L. E. C., Resck, I. S., Vieira, R. F., & Ribeiro Bizzo, H. (2014). Essential oil constituents and yields from leaves of *Blepharocalyx salicifolius* (Kunt) O. Berg and *Myracrodruon urundeuva* (Allemão) collected during daytime. *International Journal of Forestry Research*, 2014.

87. **D**al Bello B., Cocolin L., Zeppa G., Field D., Cotter PD and Hill C. (2012). Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 153: 58–65
88. Daouadji, S. D., Abbouni, B., Bouricha, M. H., Lamine, M., Benine, K. K., & Khaldi, A. (2020). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from milk and traditional fermented dairy products of south Algeria against multidrug resistance pathogenic bacteria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 10(5), 322-331.
89. Das, D., & Goyal, A. (2012). Lactic acid bacteria in food industry. In *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology* (pp. 757-772). Springer, Dordrecht.
90. Del Carmen, S., De Moreno de LeBlanc, A., & LeBlanc, J. G. (2016). Development of a potential probiotic yoghurt using selected anti-inflammatory lactic acid bacteria for prevention of colitis and carcinogenesis in mice. *Journal of applied microbiology*, 121(3), 821-830.
91. DELLALI, A., KARAM, H. Z., & KARAM, N. E. (2020). Lipase and esterase activities of lactic acid bacteria isolated from different biotopes. *African Journal of Biotechnology*, 19(4), 156-164.
92. De Man, J. C., Rogosa, D., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of *lactobacilli*. *Journal of applied Bacteriology*, 23(1), 130-135.
93. Demirci, T., Göktepe, Ç. K., Öztürk, H. İ., Akın, N., Akyol, İ., & Dertli, E. (2021). Prevalence and fingerprinting of lactic acid bacteria community during 180 days of ripening in traditional Turkish goatskin bag Tulum cheeses produced in the mountainous region of Karaman using culture-dependent and-independent methods. *International Dairy Journal*, 118, 105041.
94. De Oliveira, M. M. M., Brugnera, D. F., do Nascimento, J. A., Batista, N. N., & Piccoli, R. H. (2012). Cinnamon essential oil and cinnamaldehyde in the control of bacterial biofilms formed on stainless steel surfaces. *European Food Research and Technology*, 234(5), 821-832.
95. De Pasquale, I., Di Cagno, R., Buchin, S., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2019). Use of autochthonous mesophilic lactic acid bacteria as starter cultures for making Pecorino Crotonese cheese: Effect on compositional, microbiological and biochemical attributes. *Food Research International*, 116, 1344-1356.
96. De Souza, G. T., De Carvalho, R. J., De Sousa, J. P., Tavares, J. F., Schaffner, D., De Souza, E. L., & Magnani, M. (2016). Effects of the essential oil from *Origanum vulgare L.* on survival of pathogenic bacteria and starter lactic acid bacteria in semihard cheese broth and slurry. *Journal of food protection*, 79(2), 246-252.
97. Devlieghere, F., Vermeiren, L., & Debevere, J. (2004). New preservation technologies: possibilities and limitations. *International dairy journal*, 14(4), 273-285.
98. De Vos, W. M. (2011). Systems solutions by lactic acid bacteria: from paradigms to practice. *Microbial Cell Factories*, 10(1), 1-13.


99. Devriese, L. A., Van de Kerckhove, A., Kilpper-Bälz, R., & Schleifer, K. H. (1987). Characterization and identification of Enterococcus species isolated from the intestines of animals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(3), 257-259.
100. De Vuyst, L., & Degeest, B. (1999, May). Expolysaccharides from lactic acid bacteria: technological bottlenecks and practical solutions. In *Macromolecular Symposia* (Vol. 140, No. 1, pp. 31-41). Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
101. Dhaisne, A., Guellerin, M., Laroute, V., Laguerre, S., Cocaign-Bousquet, M., Le Bourgeois, P., & Loubiere, P. (2013). Genotypic and phenotypic analysis of dairy *Lactococcus lactis* biodiversity in milk: volatile organic compounds as discriminating markers. *Applied and environmental microbiology*, 79(15), 4643-4652.
102. Dib, W., Biscola, V., Choiset, Y., Chobert, J. M., Haertlé, T., Chekroun, A., ... & Kheroua, O. (2014). Characterization of a new isolate of *Lactobacillus brevis* WD19 from Algerian goat milk with proteolytic activity. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*, 3(12), 423-432.
103. Dinçer, E., & Kıvanç, M. (2018). Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Turkish pastırma. *Anadolu University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology*, 7(1), 12-19.
104. Doan, N. T. L., Van Hoorde, K., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., Le Thanh, B., & Vandamme, P. (2012). Validation of MALDI-TOF MS for rapid classification and identification of lactic acid bacteria, with a focus on isolates from traditional fermented foods in Northern Vietnam. *Letters in applied microbiology*, 55(4), 265-273.
105. Dobranić, V., Kazazić, S., Filipović, I., Mikulec, N., & Zdolec, N. (2016). Composition of raw cow's milk microbiota and identification of enterococci by MALDI-TOF MS-short communication. *Veterinarski arhiv*, 86(4), 581-590.
106. Doğan, M., & Ay, M. (2021). Evaluation of the probiotic potential of *Pediococcus* strains from fermented dairy product kefir. *Czech Journal of Food Sciences*, 39(5), 376-383.
107. De Giani, A., Bovio, F., Forcella, M., Fusi, P., Sello, G., & Di Gennaro, P. (2019). Identification of a bacteriocin-like compound from *Lactobacillus plantarum* with antimicrobial activity and effects on normal and cancerogenic human intestinal cells. *AMB Express*, 9(1), 1-11.
108. Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E., & Silva, C. C. G. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food microbiology*, 63, 178-190.
109. Douillard, F. P., Ribbera, A., Kant, R., Pietilä, T. E., Järvinen, H. M., Messing, M., ... & de Vos, W. M. (2013). Comparative genomic and functional analysis of 100 *Lactobacillus rhamnosus* strains and their comparison with strain GG. *PLoS genetics*, 9(8), e1003683.
110. Dwijatmoko, M. I., Praseptiangga, D., & Muhammad, D. R. A. (2016). Effect of cinnamon essential oils addition in the sensory attributes of dark chocolate. *Nusantara Bioscience*, 8(2), 301-305.

111. **F**hrmann MA, Kurzak P, Bauer J, Vogel RF. (2002). Characterization of **lactobacilli** towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *Journal of Applied Microbiology*. 92: 966–975.
112. Ehsani, A., Hashemi, M., Naghibi, S. S., Mohammadi, S., & Khalili Sadaghiani, S. (2016). Properties of *Bunium persicum* essential oil and its application in Iranian white cheese against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of food safety*, 36(4), 563-570.
113. El-Hofi, M., El-Tanboly, E. S., & Abd-Rabou, N. S. (2011). Industrial application of lipases in cheese making: a review. *Internet Journal of Food Safety*, 13, 293-302.
114. Ellis, J. C., Ross, R. P., & Hill, C. (2019). Nisin Z and lacticin 3147 improve efficacy of antibiotics against clinically significant bacteria. *Future microbiology*, 14(18), 1573-1587.
115. Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., & Mofid, V. (2012). Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, 28(5), 539-543.
116. Erginkaya, Z. E. R. R. İ. N., Turhan, E. U., & Tatlı, D. (2018). Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iranian journal of veterinary research*, 19(1), 53.
117. Eş, I., Khaneghah, A. M., Barba, F. J., Saraiva, J. A., Sant'Ana, A. S., & Hashemi, S. M. B. (2018). Recent advancements in lactic acid production-a review. *Food Research International*, 107, 763-770.
118. Essayas, A., & Pandit, S. (2021). Anti-microbial activity of potential probiotic lactic acid bacteria against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA). *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 7772-7785.
119. Essma, M. G. (2019). MODELISATION MATHEMATIQUE DE QUELQUES ACTIVITES A INTERET TECHNOLOGIQUE CHEZ DES SOUCHES DE BACTERIES LACTIQUES ISOLEES DE LAIT FERMENTE" L'BEN" ALGERIEN (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem).
120. **F**acklam, R. R., & Collins, M. D. (1989). Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *Journal of clinical microbiology*, 27(4), 731-734.
121. Fangous, M. S. (2019). Nouvelle thérapeutique anti-Pseudomonas aeruginosa dans la mucoviscidose: les Lactobacillus spp (Doctoral dissertation, Université de Bretagne occidentale-Brest).
122. Faye, T., Tamburello, A., Vegarud, G. E., & Skeie, S. (2012). Survival of lactic acid bacteria from fermented milks in an *in vitro* digestion model exploiting sequential incubation in human gastric and duodenum juice. *Journal of dairy science*, 95(2), 558-566.

123. Felis, G. E., Salvetti, E., & Torriani, S. (2015). Systematics of lactic acid bacteria: current status. *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*, 25-31.
124. Fernandes, M. L., Perin, L. M., Todorov, S. D., Nero, L. A., de Alencar, E. R., & de Aguiar Ferreira, M. (2018). *In vitro* evaluation of the safety and probiotic and technological potential of *Pediococcus pentosaceus* isolated from sheep milk. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(1), 113-131.
125. Fessard, A. (2017). Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).
126. Fenster, K. M., Parkin, K. L., & Steele, J. L. (2000). Characterization of an arylesterase from *Lactobacillus helveticus* CNRZ32. *Journal of applied microbiology*, 88(4), 572-583.
127. Flint, H. J. (2012). The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutrition reviews*, 70(suppl_1), S10-S13.
128. Fguiri, I., Ziadi, M., Atigui, M., Ayeb, N., Arroum, S., Assadi, M., & Khorchani, T. (2016). Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 103-113.
129. Fierascu, R. C., Ortan, A., Fierascu, I. C., & Fierascu, I. (2018). *In vitro* and *in vivo* evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. *Current Opinion in Food Science*, 24, 1-8.
130. Fitzsimons, N. A., Cogan, T. M., Condon, S., & Beresford, T. (1999). Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature cheddar cheese. *Applied and environmental microbiology*, 65(8), 3418-3426.
131. Flórez, A. B., Delgado, S., & Mayo, B. (2005). Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment. *Canadian journal of microbiology*, 51(1), 51-58.
132. Fraberger, V., Ammer, C., & Domig, K. J. (2020). Functional properties and sustainability improvement of sourdough bread by lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 8(12), 1895.
133. Freire, A. L., Ramos, C. L., & Schwan, R. F. (2015). Microbiological and chemical parameters during cassava based-substrate fermentation using potential starter cultures of lactic acid bacteria and yeast. *Food Research International*, 76, 787-795.
134. Freitas, F., Torres, C. A., & Reis, M. A. (2017). Engineering aspects of microbial exopolysaccharide production. *Bioresource technology*, 245, 1674-1683.
135. Fugaban, J. I. I., Vazquez Bucheli, J. E., Park, Y. J., Suh, D. H., Jung, E. S., Franco, B. D. G. D. M., ... & Todorov, S. D. (2021). Antimicrobial properties of *Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus* isolated from silage. *Journal of applied microbiology*.
136. Fusieger, A., Martins, M. C. F., de Freitas, R., Nero, L. A., & de Carvalho, A. F. (2020). Technological properties of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* obtained from dairy and non-dairy niches. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(1), 313-321.

137.  agetti, P., Bonofiglio, L., Gabarrot, G. G., Kaufman, S., Mollerach, M., Vigliarolo, L., ... & Lopardo, H. A. (2019). Resistance to β -lactams in enterococci. *Revista Argentina de microbiologia*, 51(2), 179-183.
138. Garmasheva, I. (2016). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Ukrainian traditional dairy products. *AIMS Microbiol*, 2(3), 372-387.
139. Gao, X., Kong, J., Zhu, H., Mao, B., Cui, S., & Zhao, J. (2021). *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Lactococcus* response to environmental stress: Mechanisms and application of cross-protection to improve resistance against freeze-drying. *Journal of Applied Microbiology*.
140. Garcia-Gonzalez, N., Battista, N., Prete, R., & Corsetti, A. (2021). Health-promoting role of *lactiplantibacillus plantarum* isolated from fermented foods. *Microorganisms*, 9(2), 349.
141. García-Quintáns, N., Repizo, G., Martín, M., Magni, C., & López, P. (2008). Activation of the diacetyl/acetoin pathway in *Lactococcus lactis subsp. lactis* bv. *diacetylactis* CRL264 by acidic growth. *Applied and environmental microbiology*, 74(7), 1988-1996.
142. Garroni, E., Doulgeraki, A. I., Pavli, F., Spiteri, D., & Valdramidis, V. P. (2020). Characterization of Indigenous Lactic Acid Bacteria in Cow Milk of the Maltese Islands: A Geographical and Seasonal Assessment. *Microorganisms*, 8(6), 812.
143. Ghalouni, E., & Karam, O. H. N. E. (2018). Phenotypic Identification and Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from L'ben, An Algerian Traditional Fermented Cow Milk. *Journal of PurE and Applied Microbiology*, 12(2), 521-532.
144. Gharbi Y., Fhoula I., Ruas-Madiedo P., Afef N., Boudabous A., Gueimonde M Ouzari H.I. (2019). *In-vitro* characterization of potentially probiotic *Lactobacillus* strains isolated from human microbiota: interaction with pathogenic bacteria and the enteric cell line HT29. *Annals of Microbiology* 69:61–72. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1396-1>.
145. Gibson, T., & Abdel-Malek, Y. (1945). 319. The formation of carbon dioxide by lactic acid bacteria and *Bacillus licheniformis* and a cultural method of detecting the process. *Journal of Dairy Research*, 14(1-2), 35-44.
146. Givry, S. (2006). Optimisation de procédés de fermentation lactique sur sirop de son de blé et Purification et caractérisation d'une arabinose isomérase de *Lactobacillus bifementans* (Doctoral dissertation, Reims).
147. Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., & Di Cagno, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 57-69.
148. Goldstein, E. J., Tyrrell, K. L., & Citron, D. M. (2015). *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(suppl_2), S98-S107.
149. Golić, N., Čadež, N., Terzić-Vidojević, A., Šuranská, H., Beganović, J., Lozo, J., ... & Topisirović, L. (2013). Evaluation of lactic acid bacteria and yeast diversity in traditional

white pickled and fresh soft cheeses from the mountain regions of Serbia and lowland regions of Croatia. *International Journal of Food Microbiology*, 166(2), 294-300.


150. Gu, R. X., Yang, Z. Q., Li, Z. H., Chen, S. L., & Luo, Z. L. (2008). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from stool samples of longevous people in regions of Hotan, Xinjiang and Bama, Guangxi, China. *Anaerobe*, 14(6), 313-317.
151. Guan, C., Tao, Z., Wang, L., Zhao, R., Chen, X., Huang, X., ... & Gu, R. (2020). Isolation of novel *Lactobacillus* with lipolytic activity from the vinasse and their preliminary potential using as probiotics. *AMB Express*, 10, 1-11.
152. Guarrasi, V., Sannino, C., Moschetti, M., Bonanno, A., Di Grigoli, A., & Settanni, L. (2017). The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of *Caciocavallo Palermitano* cheese. *International journal of food microbiology*, 259, 35-42.
153. Guetouache, M., & Guessas, B. (2015). Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cows milk. *African Journal of Microbiology Research*, 9(2), 71-77.
154. Guiraud J-P; Galzy P. (1980). *L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires*. Editions de "L'Usine nouvelle. Paris, 236 p.
155. Guiraud, J. P., & Rosec, J. P. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Afnor.
156. Guo, M., Park, Y. W., Dixon, P. H., Gilmore, J. A., & Kindstedt, P. S. (2004). Relationship between the yield of cheese (Chevre) and chemical composition of goat milk. *Small Ruminant Research*, 52(1-2), 103-107.
157. Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). 'Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)'. Rahul Gupta, Kadirvelu Jeevaratnam, Amrin Fatima. *Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)*, *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research* (www. jetir. org), 5(10).
158.  Hadeef, S., (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales (Magister).
159. Haghshenas, B., Nami, Y., Almasi, A., Abdullah, N., Radiah, D., Rosli, R., ... & Khosroushahi, A. Y. (2017). Isolation and characterization of probiotics from dairies. *Iranian journal of microbiology*, 9(4), 234.
160. Hamama, A. Z. (2017). Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algerien Bouhezza.
161. Hammes, W. P., & Vogel, R. F. (1995). The genus *lactobacillus*. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 19-54). Springer, Boston, MA.

162. Hammi, I. (2016). Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits fermentés marocains et de différentes variétés de fromages français (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg, Français).
163. Hanchi, H., Hammami, R., Gingras, H., Kourda, R., Bergeron, M. G., Ben Hamida, J., ... & Fliss, I. (2017). Inhibition of MRSA and of *Clostridium difficile* by durancin 61A: synergy with bacteriocins and antibiotics. *Future Microbiology*, 12(3), 205-212.
164. Harun-ur-Rashid, M., Togo, K., Ueda, M., & Miyamoto, T. (2007). Identification and characterization of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk Dahi in Bangladesh. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(1), 125-133.
165. Hassan, F. A., Abd El-Gawad, M. A. M., & Enab, A. K. (2013). Flavour compounds in cheese. *Research on Precision Instrument and Machinery*, 2(2), 15-29.
166. Héchard, Y., & Sahl, H. G. (2002). Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie*, 84(5-6), 545-557.
167. Hernandez-Valdes, J. A., Solopova, A., & Kuipers, O. P. (2020). Development of *Lactococcus lactis* Biosensors for Detection of Diacetyl. *Frontiers in microbiology*, 11, 1032.
168. HESSAS, T., & SIMOUD, S. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus sp.*
169. Hoefnagel, M. H., Starrenburg, M. J., Martens, D. E., Hugenholtz, J., Kleerebezem, M., Van Swam, I. I., ... & Snoep, J. L. (2002). Metabolic engineering of lactic acid bacteria, the combined approach: kinetic modelling, metabolic control and experimental analysis. The GenBank accession number for the sequence reported in this paper is AY046926. *Microbiology*, 148(4), 1003-1013.
170. Holzappel, W. H., Franz, C. M. A. P., Ludwig, W. O. L. F. G. A. N. G., Back, W. E. R. N. E. R., & Dicks, L. M. (2006). The genera *pediococcus* and *tetragenococcus*. *Prokaryotes*, 4, 229-266.
171. Holzappel, W. H., & Wood, B. J. (Eds.). (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. John Wiley & Sons.
172. Hoover, G. and Steenson, L.R. (1993). *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Academic Press Inc., New York. [Citation Time(s):2].
173. Houssam, A., Yahya, R., Reda, B., Nabil, G., Salwa, K., Milena, B., ... & Abdeslam, A. (2020). Characterization of probiotic properties of antifungal *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermenting green olives. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(2), 683-696.
174. Huang, X., Lao, Y., Pan, Y., Chen, Y., Zhao, H., Gong, L., ... & Mo, C. H. (2021). Synergistic Antimicrobial Effectiveness of Plant Essential Oil and Its Application in Seafood Preservation: A Review. *Molecules*, 26(2), 307.
175. Hui, Y. H., & Evranuz, E. Ö. (Eds.). (2012). *Handbook of animal-based fermented food and beverage technology* (Vol. 1). CRC press.

176. Hugenholtz, J., Kleerebezem, M., Starrenburg, M., Delcour, J., de Vos, W., & Hols, P. (2000). *Lactococcus lactis* as a cell factory for high-level diacetyl production. *Applied and environmental microbiology*, 66(9), 4112-4114.
177. Hurst, A., Perlman, P., & Laskin, A. I. (1981). Advances in applied microbiology. *Advances in Applied Microbiology*, 27.
178. IDF. (1995). IDF guideline-determination of acidifying activity of dairy cultures. *Bulletin IDF 306* (pp. 34–36). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
179. Idoui, T. (2014). Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from gizzard of local poultry. *Iranian journal of microbiology*, 6(2), 120.
180. Idoui, T., Benhamada, N., & Leghouchi, E. (2010). Microbial quality, physicochemical characteristics and fatty acid composition of a traditional butter produced from cows' milk in East Algeria. *Grasas y Aceites*, 61(3), 232-236.
181. Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., & Karam, N. E. (2009). Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*, 60(2), 177-183.
182. Idoui, T., Rechak, H., & Zabayou, N. (2013). Microbial quality, physicochemical characteristics and fatty acid composition of a traditional butter made from goat milk. *Annual Review of Food Science and Technology*.
183. Iradukunda, C., Aida, W. M. W., Ouafi, A. T., Barkouch, Y., & Boussaid, A. (2018). Aroma profile of a traditionally fermented butter (smen). *The Journal of dairy research*, 85(1), 114.
184. Iseppi, R., Camellini, S., Sabia, C., & Messi, P. (2020). Combined antimicrobial use of essential oils and bacteriocin bacLP17 as seafood biopreservative to control *Listeria monocytogenes* both in planktonic and in sessile forms. *Research in Microbiology*, 171(8), 351-356.
185. Isnard, C. (2017). *Enterococcus spp.*: entre pathogènes opportunistes et probiotiques (Doctoral dissertation, Normandie).
186. Jawan, R., Abbasiliasi, S., Mustafa, S., Kapri, M. R., Halim, M., & Ariff, A. B. (2021). *In Vitro* Evaluation of Potential Probiotic Strain *Lactococcus lactis* Gh1 and its Bacteriocin-like inhibitory substances for potential use in the food industry. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 13(2), 422-440.
187. Jeong, D., Kim, D. H., Kang, I. B., Kim, H., Song, K. Y., Kim, H. S., & Seo, K. H. (2017). Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1 isolated from kefir. *Food Control*, 78, 436-442.
188. Jie Yu, Lanxin Mo, Lin Pan, Caiqing Yao, Dongyan Ren, Xiaona An, Tsedensodnom Tsogtgerel, Heping Zhang & Wenjun Liu. (2018). Bacterial microbiota and metabolic

character of traditional sour cream and butter in Buryatia, Russia. *Frontiers in microbiology*, 9, 2496.


189. Jimborean, M. A., Salanta, L. C., Tofana, M., Pop, C. R., Rotar, A. M., & Fetti, V. (2016). Use of essential oils from *citrus sinensis* in the development of new type of yogurt. *BULLETIN OF UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND VETERINARY MEDICINE CLUJ-NAPOCA-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 73(1), 24-27.
190. Joint, F. A. O. (2002). WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, 30.
191. Kačániová, M., Galovičová, L., Valková, V., Tvrdá, E., Terentjeva, M., Žiarovská, J., ... & Kowalczewski, P. L. (2021). Antimicrobial and antioxidant activities of *Cinnamomum cassia* essential oil and its application in food preservation. *Open Chemistry*, 19(1), 214-227.
192. Kacem, M., & Karam, N. E. (2006). Physicochemical and microbiological study of “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *GRASAS Y ACEITES*, 57(2), 198-204.
193. Kalbaza, K. (2018). *Bactéries Lactiques De Produits Artisanaux : Identification Et Caractéristiques Technologiques*. (Doctoral dissertation, Université Ahmed Ben Bella, Oran 1).
194. KALBAZA, K., Halima, Z. K., & KARAM, N. E. (2018). Identification and major technological characteristics of *Lactococcus* and *Lactobacillus* strains isolated from hamoum, an Algerian fermented wheat. *African Journal of Biotechnology*, 17(5), 108-117.
195. Karsloğlu, B., Çiçek, Ü. E., Kolsarici, N., & Candoğan, K. (2014). Lipolytic changes in fermented sausages produced with turkey meat: effects of starter culture and heat treatment. *Korean journal for food science of animal resources*, 34(1), 40.
196. Karyantina, M., Anggrahini, S., Utami, T., & Rahayu, E. S. (2020). Moderate Halophilic Lactic Acid Bacteria from Jambal roti: A Traditional Fermented Fish of Central Java, Indonesia. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29(10), 990-1000.
197. Kasra-Kermanshahi, R., & Mobarak-Qamsari, E. (2015). Inhibition effect of lactic acid bacteria against food born pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Applied Food Biotechnology*, 2(4), 11-19.
198. Katz, M., Medina, R., Gonzalez, S., & Oliver, G. (2002). Esterolytic and lipolytic activities of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk and cheese. *Journal of food protection*, 65(12), 1997-2001.
199. Kaya, H. I., & Simsek, O. (2019). Characterization of pathogen-specific bacteriocins from lactic acid bacteria and their application within cocktail against pathogens in milk. *Food Science and Technology*, 115, 108464.
200. Kazancıgil, E., Demirci, T., Öztürk-Negiş, H. İ., & Akın, N. (2019). Isolation, technological characterization and in vitro probiotic evaluation of *Lactococcus* strains from traditional Turkish skin bag Tulum cheeses. *Annals of Microbiology*, 69(12), 1275-1287.

201. Keerthini, S., Kapilan, R., & Vasantharuba, S. (2017). Isolation of potential bacteriocin-producing lactic acid bacteria from fermented food products showing antimicrobial activity.
202. Ketrouti, L., Dalache, F., Benabdelmoumene, D., Dahou, A. A., & Homrani, A. (2021). Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Different Sheep's Milk. *Asian Journal of Dairy & Food Research*, 40(3).
203. Khajehie, N., Golmakani, M. T., Eblaghi, M., & Eskandari, M. H. (2017). Evaluating the effects of microwave-assisted hydrodistillation on antifungal and radical scavenging activities of *oliveria decumbens* and *chaerophyllum macropodium* essential oils. *Journal of food protection*, 80(5), 783-791.
204. Khandelwal, P., Gaspar, F. B., Crespo, M. T. B., & Upendra, R. S. (2016). Lactic Acid Bacteria. *Fermented Foods, Part I: Biochemistry and Biotechnology*, 112-132.
205. Kiani, H., Mousavi, M. E., Razavi, H., & Morris, E. R. (2010). Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 744-754.
206. Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A. M. (2021). Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*, 26(7), 1858.
207. Kim, J. D. (2005). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from Kimchi against *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiology*, 33(4), 210-214.
208. Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 12(1-3), 39-85.
209. Kocabaş, D. S., Lyne, J., & Ustunol, Z. (2021). Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*.
210. Kondrotiene, K., Lauciene, L., Andruleviciute, V., Kasetiene, N., Serniene, L., Sekmokiene, D., & Malakauskas, M. (2020). Safety assessment and preliminary *in vitro* evaluation of probiotic potential of *Lactococcus lactis* strains naturally present in raw and fermented milk. *Current Microbiology*, 77(10), 3013-3023.
211. Kristensen, L. S., Siegumfeldt, H., Larsen, N., & Jespersen, L. (2020). Diversity in NaCl tolerance of *Lactococcus lactis* strains from DL-starter cultures for production of semi-hard cheeses. *International Dairy Journal*, 105, 104673.
212. Kumar, V., Kumari, A., Angmo, K., & Bhalla, T. C. (2017). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India. *Journal of food science and technology*, 54(7), 1945-1952.
213.  amari, F. (2014). Utilisation de bactéries lactiques probiotiques pour prémunir les poissons d'élevage contre des vibriens pathogènes (Doctoral dissertation, Brest Université de Monastir , Tunisie).

214. Larpent-Gourgaud, M., Michaux, O., Larpent, J. P., Desmasures, N., Desmazeaud, M., Mangin, I., ... & Tailliez, P. (1997). Les ferments lactiques et bactéries apparentées. *Microbiologie alimentaire et Technique de laboratoire*. Larpent J-P.
215. Laslo, E., & György, É. (2018). Evaluation of the microbiological quality of some dairy products. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 11, 27-44.
216. Lavermicocca, P., Reguant, C., & Bautista-Gallego, J. (2021). lactic acid bacteria within the food industry: what is new on their technological and functional role. *Frontiers in Microbiology*, 12.
217. Lebreton, F., Schaik, W. van, McGuire, A. M., Godfrey, P., Griggs, A., Mazumdar, V., Corander, J., Cheng, L., Saif, S., Young, S., Zeng, Q., Wortman, J., Birren, B., Willems, R. J. L., Earl, A. M., & Gilmore, M. S. (2013). Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. *MBio*, 4(4).
218. Lecomte, X. (2014). Contribution de protéases pariétales dans l'activité des systèmes protéolytiques de surface de *Lactobacillus helveticus* et *Streptococcus thermophilus* en matrice laitière (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
219. Ledina, T., Golob, M., Djordjević, J., Magas, V., Colovic, S., & Bulajic, S. (2018). MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of Serbian artisanal cheeses microbiota. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 13(3), 309-314.
220. Lee, K. W., Shim, J. M., Park, S. K., Heo, H. J., Kim, H. J., Ham, K. S., & Kim, J. H. (2016). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potentials from kimchi, traditional Korean fermented vegetable. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 130-137.
221. Leksir, C., & Chemmam, M. (2015). Contribution on the characterization of klila, a traditional cheese in east of Algéria. *Livestock Research for Rural Development*, 27(5).
222. Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., & Chemmam, M. (2019). Traditional dairy products in Algeria: case of Klila cheese. *Journal of Ethnic Foods*, 6(1), 1-14.
223. Léonard, L. (2013). Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne, Dijon).
224. Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
225. Leroy, S., Lebert, I., Chacornac, J. P., Chevallier, I., & Talon, R. (2006). Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique: bactéries lactiques et staphylocoques à coagulase négative. *La revue française de la recherche en viandes et produits carnés*, 25(5), 171-175.
226. Leveau, J. V., Bouix, M et Deroissart, H. (1991). *Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires: le contrôle micro biologique*, 2eme édition, Technique & documentation, Lavoisier, Paris, pp. 125-183.
227. Levit, R., de Giori, G. S., de LeBlanc, A. D. M., & LeBlanc, J. G. (2019). Beneficial effect of a mixture of vitamin-producing and immune-modulating lactic acid bacteria as adjuvant for

therapy in a recurrent mouse colitis model. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(21), 8937-8945.


228. Leyva Salas, M. (2018). Cultures antifongiques applicables comme ferments de bioprotection dans les produits laitiers: sélection, évaluation à l'échelle pilote et identification de composés supports de l'activité (Doctoral dissertation, Microbiologie et Parasitologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2018. Français).
229. Li, D., Ni, K., Pang, H., Wang, Y., Cai, Y., & Jin, Q. (2015). Identification and antimicrobial activity detection of lactic acid bacteria isolated from corn stover silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(5), 620.
230. Li, Q., Liu, X., Dong, M., Zhou, J., & Wang, Y. (2015). Aggregation and adhesion abilities of 18 lactic acid bacteria strains isolated from traditional fermented food. *International Journal of Agricultural Policy and Research*, 3(2), 84-92.
231. Li, Y. Q., Kong, D. X., & Wu, H. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278.
232. Lim, E. S. (2017). Effect of green tea supplementation on probiotic potential, physico-chemical, and functional properties of yogurt. *Korean Journal Of Microbiology*, 53(2), 103-117.
233. Lim, Y. H., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., & Abdullah, N. (2019). Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal Of Animal Science And Biotechnology*, 10(1), 1-13.
234. Lin, Y. T., Labbe, R. G., & Shetty, K. (2004). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in fish and meat systems by use of oregano and cranberry phytochemical synergies. *Applied And Environmental Microbiology*, 70(9), 5672-5678.
235. Liu, M., Nauta, A., Francke, C., & Siezen, R. J. (2008). Comparative genomics of enzymes in flavor-forming pathways from amino acids in lactic acid bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, 74(15), 4590-4600.
236. Liu, M., Bayjanov, J. R., Renckens, B., Nauta, A., & Siezen, R. J. (2010). The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC genomics*, 11(1), 1-15.
237. Ljungh, A., & Wadstrom, T. (2006). Lactic acid bacteria as probiotics. *Current Issues In Intestinal Microbiology*, 7(2), 73-90.
238. Lübeck, M., & Lübeck, P. S. (2019). Application of lactic acid bacteria in green biorefineries. *FEMS Microbiology Letters*, 366(3), fnz024.
239. Luiz, L. M. P., Castro, R. D., Sandes, S. H. C., Silva, J. G., Oliveira, L. G., Sales, G. A., ... & Souza, M. R. (2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. *CyTA-Journal Of Food*, 15(1), 125-128.
240. Luquet, F. M., & Corrieu, G. (2005). Lactic acid and probiotic bacteria. *Lactic acid and probiotic bacteria*.

241. a, C. L., Zhang, L. W., Yi, H., Du, M., Han, X., Zhang, L. L., ... & Li, Q. (2011). Technological characterization of *lactococci* isolated from traditional Chinese fermented milks. *Journal Of Dairy Science*, 94(4), 1691-1696.
242. Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 219(1), 129-135.
243. Makhlof, A. (2006). *Méthodologie pour l'optimisation dynamique multicritère d'un procédé discontinu alimenté: application à la production bactérienne d'arômes laitiers* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
244. Makhloufi, K. M. (2011). *Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique Leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
245. Mami A (2013). *Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie*. Thèse de doctorat en sciences. Université d'Oran 176 pages.
246. Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16(3), 189-199.
247. Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., ... & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, 44, 94-102.
248. Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Bacteriocin-antimicrobial synergy: a medical and food perspective. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1205.
249. McAuliffe, O. (2018). Symposium review: *Lactococcus lactis* from nondairy sources: their genetic and metabolic diversity and potential applications in cheese. *Journal Of Dairy Science*, 101(4), 3597-3610.
250. Mduduzi Paul Mokoena, Taurai Mutanda & Ademola O. Olaniran. (2016). Perspectives on the probiotic potential of lactic acid bacteria from African traditional fermented foods and beverages, *Food & Nutrition Research*, 60:1, 29630, DOI: 10.3402/fnr.v60.29630.
251. Mechai, A. (2009). *Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques*. Biochimie appliqué.
252. Mechai, A., Debabza, M., & Kirane, D. (2014). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal*, 21(6).

253. Mechai, A., Debabza, M., & Zouari, S. (2020). Antagonistic activity of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milks against multi-drug resistant and β -lactamases-producing pathogenic bacteria. *Research Journal of Biotechnology*, 15 (4).
254. Medjoudj, H., Aouar, L., Zidoune, M. N., & Hayaloglu, A. A. (2017). Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk. *International Journal of Food Properties*, 20(sup3), S3246-S3265.
255. Medjoudj, H., Aouar, L., Derouiche, M., Choiset, Y., Haertlé, T., Chobert, J. M., ... & Hayaloglu, A. A. (2020). Physicochemical, microbiological characterization and proteolysis of Algerian traditional Bouhezza cheese prepared from goat's raw milk. *Analytical Letters*, 53(6), 905-921.
256. MEGHOUFEL, N. L. (2019). Etude de la diversité taxinomique et technologique des bactéries lactiques isolées au cours de la production de Jben et approche moléculaire de leurs interactions au microcosme fromager (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).
257. MEKRI, M. (2016). Effet de synergie des bactériocines issues des bactéries lactiques et pseudo lactiques et des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les germes pathogènes (Doctoral dissertation).
258. Mermouri, L., Dahmani, M. A., Bouhafoun, A., Berges, T., Kacem, M., & Kaid-Harche, M. (2017). *In vitro* screening for probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from algerian fermented products. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11, 95-103.
259. Mennane, Z., Faid, M., Lagzouli, M., Ouhssine, M., Elyachioui, M., Berny, E., ... & Khedid, K. (2007). Physico-chemical, microbial and sensory characterisation of Moroccan klila. *Middle-East Journal of Scientific Resarch*, 2(3-4), 93-97.
260. Merabti, R., Madec, M. N., Chuat, V., Becila, F. Z., Boussekine, R., Bekhouche, F., & Valence, F. (2019). First Insight into the Technological Features of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Fermented Wheat Lemzeiet. *Current Microbiology*, 76(10), 1095-1104.
261. Mercier-Bonin, M., & Chapot-Chartier, M. P. (2017). Surface proteins of *Lactococcus lactis*: bacterial resources for muco-adhesion in the gastrointestinal tract. *Frontiers In Microbiology*, 8, 2247.
262. Meribai, A., Jenidi, R., Hammouche, Y., & Bensoltane, A. (2017). Physico-chemical characterization and microbiological quality evaluation of klila, an artisanal hard dried cheese from Algerian's arid areas: Preliminary study. *Journal of News Sciences Agricultural Biotechnology*, 40, 2169-2174.
263. Meyers, S. A., Cuppett, S. L., & Hutkins, R. W. (1996). Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food Microbiology*, 13(5), 383-389.
264. Mezaini, A., Chihib, N. E., Dilmi Bouras, A., Nedjar-Arroume, N., & Hornez, J. P. (2009). Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *Journal of Environmental And Public Health*.

265. Morandi, S., Silveti, T., Miranda Lopez, J. M., & Brasca, M. (2015). Antimicrobial Activity, Antibiotic Resistance and the Safety of Lactic Acid Bacteria in Raw Milk Valtellina Casera Cheese. *Journal of Food Safety*, 35(2), 193-205.
266. Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., ... & López-Gómez, J. P. (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*, 6(1), 23.
267. Moroti, C., Souza Magri, L. F., de Rezende Costa, M., Cavallini, D. C., & Sivieri, K. (2012). Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. *Lipids in health and disease*, 11(1), 1-8.
268. Mourad, G., Bettache, G., & Omrane, T. (2015). Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Rural Traditional Cheese (Jben) of Djelfa Province. *International Journal of Microbiology Research*, 6, 175-187.
269. Mourad, G., & Bettache, G. (2018). Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional butter produced in Djelfa province of Algeria. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 15(3), 737.
270. Mourad, G., & Bettache, G. (2020). Various Traditional Dairy Products in Africa and Algeria. *Journal of Nutrition and Food Security*, 5(4), 400-408.
271. Mozzi, F., & Vignolo, G. M. (Eds.). (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*. John Wiley & Sons.
272. Muhialdin, B. J., Hassan, Z., & Sadon, S. K. (2011). Antifungal Activity of *Lactobacillus fermentum* Te007, *Pediococcus pentosaceus* Te010, *Lactobacillus pentosus* G004, and *L. paracasi* D5 on Selected Foods. *Journal of Food Science*, 76(7), M493-M499.
273. Munekata, P. E., Pateiro, M., Rodríguez-Lázaro, D., Domínguez, R., Zhong, J., & Lorenzo, J. M. (2020). The role of essential oils against pathogenic *Escherichia coli* in food products. *Microorganisms*, 8(6), 924.
274. Muruzović, M. Ž., Mladenović, K. G., Žugić-Petrović, T. D., & Čomić, L. R. (2018). Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditionally made Serbian Cheese and evaluation of their antagonistic potential against *Enterobacteriaceae*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(4), e13577.
275. Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A., & Maneerat, S. (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8), 1337-1345.
276. Muthusamy K., Soundharajan I., Srigopalram S., Kim D., Kuppusamy P., Lee K.D and Choi K.C. (2020). Probiotic characteristics and antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* and its impact on fermentation of Italian ryegrass at low moisture. *Applied Science*. 10 (1), 417; doi:10.3390/app10010417.

277. **N**awaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., ... & Xu, J. (2011). Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current Microbiology*, 62(3), 1081-1089.
278. Ndoti-Nembe, A., Vu, K. D., Doucet, N., & Lacroix, M. (2015). Antimicrobial effects of essential oils, nisin, and irradiation treatments against *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat carrots. *Journal of Food Science*, 80(4), M795-M799.
279. Nehal, F., Sahnoun, M., Smaoui, S., Jaouadi, B., Bejar, S., & Mohammed, S. (2019). Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou. *Microbial Pathogenesis*, 132, 10-19.
280. Nematollahi, Z., Ebrahimi, M., Raeisi, M., Dadban Shahamat, Y., Ghodsi Moghadam, M., Hashemi, M., ... & Shirzad, H. (2020). The Antibacterial Activity of Cinnamon Essential oil against Foodborne Bacteria: A Mini-Review. *Journal of Human, Environment, and Health Promotion*, 6(3), 101-105.
281. Nieto-Arribas, P., Seseña, S., Poveda, J. M., Palop, L., & Cabezas, L. (2010). Genotypic and technological characterization of *Leuconostoc* isolates to be used as adjunct starters in Manchego cheese manufacture. *Food Microbiology*, 27(1), 85-93.
282. **O**gunshe, A. A., Omotoso, M. A., & Bello, V. B. (2011). The *in vitro* antimicrobial activities of metabolites from *Lactobacillus* strains on *Candida* species implicated in *Candida vaginitis*. *The Malaysian journal of Medical Sciences: MJMS*, 18(4), 13.
283. Oh, A., Daliri, E. B. M., & Oh, D. H. (2018). Screening for potential probiotic bacteria from Korean fermented soybean paste: *In vitro* and *Caenorhabditis elegans* model testing. *Food Science and Technology*, 88, 132-138.
284. Oliveira, M. E. G. D., Garcia, E. F., Queiroga, R. D. C. R. D. E., & Souza, E. L. D. (2012). Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Scientia Agricola*, 69, 370-379.
285. Olojede, A. O., Sanni, A. I., & Banwo, K. (2020). Rheological, textural and nutritional properties of gluten-free sourdough made with functionally important lactic acid bacteria and yeast from Nigerian sorghum. *Food Science and Technology*, 120, 108875.
286. Ortiz-Estrada, Á. M., Heredia-Castro, P. Y., Hernández-Mendoza, A., Reyes-Díaz, R., Vallejo-Cordoba, B., & González-Córdova, A. F. (2020). Poro de Tabasco cheese: Chemical composition and microbiological quality during its artisanal manufacturing process. *Journal of Dairy Science*, 103(4), 3025-3037.
287. Ortolani, M. B. T., Yamazi, A. K., Moraes, P. M., Viçosa, G. N., & Nero, L. A. (2010). Microbiological quality and safety of raw milk and soft cheese and detection of autochthonous lactic acid bacteria with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, and *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(2), 175-180.


288. Oudah, M. A., Rajyalakshmi, K., Priya, A. S., Shabana, S., & Krishna, A. (2019). Identification, Screening and Characterization of Potential Probiotics from Human Milk.
289. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18(5), 414-420.
290.  HALAKORNKULE, C. & TANASUPAWAT, S. (2006). Characterization of lactic acid bacteria from traditional Thai fermented sausages. *Journal of Culture Collections*, 5, 46-57.
291. Pan, D., & Mei, X. (2010). Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis subsp. lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 908-914.
292. Pan, D. D., Wu, Z., Peng, T., Zeng, X. Q., & Li, H. (2014). Volatile organic compounds profile during milk fermentation by *Lactobacillus pentosus* and correlations between volatiles flavor and carbohydrate metabolism. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 624-631.
293. Parsaeimehr, M., Khazaei, M., Jebellijavan, A., & Staji, H. (2019). The isolation and identification of dominant lactic acid bacteria by the sequencing of the 16S rRNA in traditional cheese (Khiki) in semnan, Iran. *Journal of Human, Environment and Health Promotion*, 5(1), 15-20.
294. Parihar, A. K., Kulshrestha, M. K., Sahu, U., Karbhal, K. S., Inchulkar, S. R., Shah, K., & Chauhan, N. S. (2021). Quality control of Dalchini (*Cinnamomum zeylanicum*): a review. *Advances in Traditional Medicine*, 1-10.
295. Partovi, R., Gandomi, H., Akhondzadeh Basti, A., Noori, N., Nikbakht Borujeni, G., & Kargozari, M. (2015). Microbiological and Chemical Properties of S iahmazgi Cheese, an Iranian Artisanal Cheese: Isolation and Identification of Dominant Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 871-880.
296. Patel, R. (2019). A moldy application of MALDI: MALDI-ToF mass spectrometry for fungal identification. *Journal of Fungi*, 5(1), 4.
297. Perin, L. M., Belviso, S., BELLO, B. D., Nero, L. A., & Cocolin, L. (2017). Technological properties and biogenic amines production by bacteriocinogenic lactococci and enterococci strains isolated from raw goat's milk. *Journal of Food Protection*, 80(1), 151-157.
298. Popović, N., Dinić, M., Tolinački, M., Mihajlović, S., Terzić-Vidojević, A., Bojić, S., ... & Veljović, K. (2018). New insight into biofilm formation ability, the presence of virulence genes and probiotic potential of *Enterococcus sp.* dairy isolates. *Frontiers In Microbiology*, 9, 78.
299. Pot, B., & Tsakalidou, E. (2009). Taxonomy and metabolism of *Lactobacillus*. *Lactobacillus molecular biology: From Genomics To Probiotics*, 1, 1-56.
300. Prasad, J., Gill, H., Smart, J., & Gopal, P. K. (1998). Selection and characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *International Dairy Journal*, 8(12), 993-1002.


301. **R**ahmati, F. (2018). Identification and characterization of *Lactococcus* starter strains in milk-based traditional fermented products in the region of Iran. *AIMS Agriculture and Food*, 3(1), 12-25.
302. Rajoka, M. S. R., Mehwish, H. M., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L., ... & Shi, J. (2017). Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk. *Food Science and Technology*, 84, 271-280.
303. Rakhmanova, A., Khan, Z. A., & Shah, K. (2018). A mini review fermentation and preservation: role of lactic acid bacteria. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(5), 414-417.
304. Ramakrishnan, V., Narayan, B., & Halami, P. M. (2019). Lipase of Lactic Acid Bacteria: Diversity and Application. In *Microbes for Sustainable Development and Bioremediation* (pp. 313-323). CRC Press.
305. Reale, A., Di Renzo, T., Rossi, F., Zotta, T., Iacumin, L., Preziuso, M., ... & Coppola, R. (2015). Tolerance of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* strains to stress factors encountered in food processing and in the gastro-intestinal tract. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 721-728.
306. Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, A. R. U., & Jahid, I. K. (2020). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1223-1237.
307. Ribeiro, S. C., Coelho, M. C., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M., Dapkevicius, M. L. E., & Silva, C. C. G. (2014). Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from P ico cheese an artisanal cow's milk cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 116(3), 573-585.
308. Ritota, M., & Manzi, P. (2020). Natural preservatives from plant in cheese making. *Animals*, 10(4), 749.
309. Ryu, E. H., & Chang, H. C. (2013). *In vitro* study of potentially probiotic lactic acid bacteria strains isolated from kimchi. *Annals of Microbiology*, 63(4), 1387-1395.
310. **S**aadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., & Gargari, B. P. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 217, 79-89.
311. Sáez, G. D., Flomenbaum, L., & Zárata, G. (2018). Lactic acid bacteria from argentinean fermented foods: isolation and characterization for their potential use as starters for fermentation of vegetables. *Food Technology and Biotechnology*, 56(3), 398.
312. Sahu, L., & Panda, S. K. (2018). Innovative technologies and implications in fermented food and beverage industries: An overview. *Innovations in technologies for fermented food and beverage industries*, 1-23.

- 313.** Salama, H.M.H. & Marraiki, N. (2010). Antimicrobial activity et phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (polygonaceae), naturally growing in Egypt, Saudi. Journal of biological sciences. 17:57-63.
- 314.** Salvetti, E., Torriani, S., & Felis, G. E. (2012). The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. Probiotics and antimicrobial proteins, 4(4), 217-226.
- 315.** Samah M. El-Sayed and Ahmed M. Youssef. (2019). Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products. Heliyon Volume 5, Issue 6, e01989.
- 316.** SAMET-BALI, O. L. F. A., Bellila, A., AYADI, M. A., Marzouk, B., & Attia, H. (2010). A comparison of the physicochemical, microbiological and aromatic composition of Traditional and Industrial Leben in Tunisia. International Journal of Dairy Technology, 63(1), 98-104.
- 317.** Sanalibaba, P., & Çakmak, G. A. (2016). Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria. Applied. Microbiology. Open Access, 2(1000115).
- 318.** Sanchez, S., & Demain, A. L. (2008). Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. Microbial Biotechnology, 1(4), 283-319.
- 319.** Sanders, M. E. (2008). Probiotics: definition, sources, selection, and uses. Clinical Infectious Diseases, 46(Supplement_2), S58-S61.
- 320.** Sant'Ana, A. M. S., Bezerril, F. F., Madruga, M. S., Batista, A. S. M., Magnani, M., Souza, E. L., & Queiroga, R. C. R. E. (2013). Nutritional and sensory characteristics of Minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both. Journal of Dairy Science, 96(12), 7442-7453.
- 321.** Saoudi, Z. (2012). Caractérisation microbiologique et de la protéolyse du fromage traditionnel Algérien'Bouhezza'de ferme.
- 322.** Sauer, M., Russmayer, H., Grabherr, R., Peterbauer, C. K., & Marx, H. (2017). The efficient clade: lactic acid bacteria for industrial chemical production. Trends in Biotechnology, 35(8), 756-769.
- 323.** Švec, P., & Franz, C. M. (2014). The genus *Enterococcus*. Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy, 175-211.
- 324.** Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, 71(4), 394-406.
- 325.** Schleifer, K. H., & Kilpper-Bälz, R. (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 34(1), 31-34.
- 326.** Schillinger, U., & Lücke, F. K. (1987). Identification of *lactobacilli* from meat and meat products. Food Microbiology, 4(3), 199-208.
- 327.** Schilliger, U., & Lucke, F. K. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolate from meat. Applied and Environmental Microbiology, 55, 1901-6.

- 328.** Selim, S. (2011). Antimicrobial activity of essential oils against Vancomycin-Resistant enterococci (VRE) and *Escherichia coli* O157: H7 in feta soft cheese and minced beef meat. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(1), 187-196.
- 329.** Senhaji, O., Faid, M., & Kalalou, I. (2006). Étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de cannelle. *Phytothérapie*, 4(1), 24-30. DOI 10.1007/si0298-006-0147-9.
- 330.** Serio, A. W., Magalhães, M. L., Blanchard, J. S., & Connolly, L. E. (2017). Aminoglycosides: Mechanisms of action and resistance. In *Antimicrobial drug resistance* (pp. 213-229). Springer, Cham.
- 331.** Shangpliang, H. N. J., Sharma, S., Rai, R., & Tamang, J. P. (2017). Some technological properties of lactic acid bacteria isolated from Dahi and Datshi, naturally fermented milk products of Bhutan. *Frontiers in Microbiology*, 8, 116.
- 332.** Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627-662.
- 333.** Sharma, A., Lavania, M., Singh, R., & Lal, B. (2021). Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1622-1632.
- 334.** Siezen, R. J., Tzeneva, V. A., Castioni, A., Wels, M., Phan, H. T., Rademaker, J. L., ... & van Hylckama Vlieg, J. E. (2010). Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches. *Environmental Microbiology*, 12(3), 758-773.
- 335.** Siezen, R. J., & van Hylckama Vlieg, J. E. (2011). Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer. *Microbial cell factories*, 10(1), 1-13.
- 336.** Siezen, R. J., Bayjanov, J. R., Felis, G. E., van der Sijde, M. R., Starrenburg, M., Molenaar, D., ... & van Hylckama Vlieg, J. E. (2011). Genome-scale diversity and niche adaptation analysis of *Lactococcus lactis* by comparative genome hybridization using multi-strain arrays. *Microbial Biotechnology*, 4(3), 383-402.
- 337.** Silva, L. A., Neto, J. H. P. L., & Cardarelli, H. R. (2019). Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum*: technological properties, biological activity, and potential application in the food industry. *Annals of Microbiology*, 69(4), 321-328.
- 338.** Sindi, A., Badsha, M., Nielsen, B., & Ünlü, G. (2020). Antimicrobial activity of six international artisanal kefir against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* serovar *enteritidis*, and *Staphylococcus aureus*. *Microorganisms*, 8(6), 849.
- 339.** Singh, A., Deepika, Chaudhari, A. K., Das, S., Prasad, J., Dwivedy, A. K., & Dubey, N. K. (2021). Efficacy of Cinnamomum cassia essential oil against food-borne molds and aflatoxin B1 contamination. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 155(4), 899-907.
- 340.** Singla, V., Mandal, S., Sharma, P., Anand, S., & Tomar, S. K. (2018). Antibiotic susceptibility profile of *Pediococcus spp.* from diverse sources. *3 Biotech*, 8(12), 1-17.
- 341.** Skeie, S., Kieronczyk, A., Eidet, S., Reitan, M., Olsen, K., & Østlie, H. (2008). Interaction between starter bacteria and adjunct *Lactobacillus plantarum* INF15D on the degradation of

citrate, asparagine and aspartate in a washed-curd cheese. *International Dairy Journal*, 18(2), 169-177.

- 342.** Smokvina, T., Wels, M., Polka, J., Chervaux, C., Brisse, S., Boekhorst, J., ... & Siezen, R. J. (2013). *Lactobacillus paracasei* comparative genomics: towards species pan-genome definition and exploitation of diversity. *PloS one*, 8(7), e68731.
- 343.** Soro-Yao, A. A., Schumann, P., Thonart, P., Djè, K. M., & Pukall, R. (2014). The use of MALDI-TOF mass spectrometry, ribotyping and phenotypic tests to identify lactic acid bacteria from fermented cereal foods in Abidjan (Côte d'Ivoire). *The Open Microbiology Journal*, 8, 78.
- 344.** Stepien-Pysniak, D., Hauschild, T., Rozanski, P., & Marek, A. (2017). MALDI-TOF mass spectrometry as a useful tool for identification of *Enterococcus spp.* from wild birds and differentiation of closely related species. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(6), 1128-1137.
- 345.** Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. (2010). Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.
- 346.**  aale, E. (2016). Recherche de molécules bioactives d'origine microbienne: caractérisation biochimique et moléculaire des souches de bactéries isolées du Soumbala, du Bikalga et de certains yaourts consommés au Burkina Faso, productrices de bactériocines (Doctoral dissertation, Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO).
- 347.** TaDJINE, D., BOUDALIA, S., BOUSBIA, A., KHELIFA, R., MEBIROUK BOUDECHICHE, L., TADJINE, A., & CHEMMAM, M. (2019). Pasteurization effects on yield and physicochemical parameters of cheese in cow and goat milk. *Food Science and Technology*, 40, 580-587.
- 348.** Tadjine, D., Boudalia, S., Bousbia, A., Gueroui, Y., Symeon, G., MEBIROUK BOUDECHICHE, L., ... & Chemmam, M. (2020). Milk heat treatment affects microbial characteristics of cows' and goats' "Jben" traditional fresh cheeses. *Food Science and Technology*, 41, 136-143.
- 349.** Taghi-Zadeh, A., & Nejati, F. (2017). Screening of lactic acid bacteria isolated from Iranian sourdoughs for antifungal activity: *Enterococcus faecium* showed the most potent antifungal activity in bread. *Applied Food Biotechnology*, 4(4), 219-227.
- 350.** TAHLAITI, H. (2019). Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).
- 351.** Tambekar DH, Bhutada SA. (2010). An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus sp.* from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research in Science and Technology*. 2(10):82–88

- 352.** Taranto, M. P., Medici, M., Perdigon, G., Holgado, A. R., & Valdez, G. F. (1998). Evidence for hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. *Journal of Dairy Science*, 81(9), 2336-2340.
- 353.** Tatsadjieu, L. N., Tchikoua, R., & Funtong, C. M. M. (2016). Antifungal activity of lactic acid bacteria against molds isolated from corn and fermented corn paste. *American Journal of Microbiological Research*, 4, 90-100.
- 354.** Terzaghi, B. E., & Sandine, W. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29(6), 807-813.
- 355.** Terzić-Vidojević, A., Tonković, K., Pavunc, A. L., Beganović, J., Strahinić, I., Kojić, M., ... & Topisirović, L. (2015). Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter cultures for production of white pickled and fresh soft cheeses. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 298-306.
- 356.** Teuber, M., & Geis, A. (2006). The genus *lactococcus*. *The prokaryotes*, 4, 205-228.
- 357.** Thielmann, J., Muranyi, P., & Kazman, P. (2019). Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Heliyon*, 5(6), e01860.
- 358.** Todorov, S. D., Prévost, H., Lebois, M., Dousset, X., LeBlanc, J. G., & Franco, B. D. (2011). Bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* ST16Pa isolated from papaya (*Carica papaya*)—From isolation to application: Characterization of a bacteriocin. *Food Research International*, 44(5), 1351-1363.
- 359.** Tremonte, P., Pannella, G., Succi, M., Tipaldi, L., Sturchio, M., Coppola, R., ... & Sorrentino, E. (2017). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different environments: A preliminary study.
- 360.** Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E., & Salminen, S. (2001). Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 393s-398s.
- 361.** Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C., & Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Research International*, 48(2), 696-702.
- 362.**  van der Meulen, R., Grosu-Tudor, S., Mozzi, F., Vanningelgem, F., Zamfir, M., de Valdez, G. F., & De Vuyst, L. (2007). Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International Journal of Food Microbiology*, 118(3), 250-258.
- 363.** Vargas-Bello-Pérez, E., Geldsetzer-Mendoza, C., Ibáñez, R. A., Rodríguez, J. R., Alvarado-Gillis, C., & Keim, J. P. (2021). Chemical Composition, Fatty Acid Profile and Sensory Characteristics of Chanco-Style Cheese from Early Lactation Dairy Cows Fed Winter Brassica Crops. *Animals*, 11(1), 107.

- 364.** Vasiee, A., Falah, F., Behbahani, B. A., & Tabatabaee-Yazdi, F. (2020). Probiotic characterization of *Pediococcus* strains isolated from Iranian cereal-dairy fermented product: Interaction with pathogenic bacteria and the enteric cell line Caco-2. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 130(5), 471-479.
- 365.** Vijayakumar, J., Aravindan, R., & Viruthagiri, T. (2008). Recent trends in the production, purification and application of lactic acid. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 22(2), 245-264.
- 366.** Vijayaraghavan, P., & Vincent, S. G. P. (2013). A simple method for the detection of protease activity on agar plates using bromocresolgreen dye. *Journal of Biochemical Technology*, 4(3), 628-630.
- 367.** Villalobos-Chaparro, S., Salas-Muñoz, E., Gutiérrez-Méndez, N., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2018). Sensory profile of Chihuahua Cheese manufactured from raw milk. *International Journal of Food Science*, 2018.
- 368.** Vladimír, D., Miloslava, K., Markéta, M., Jaroslava, H., & Petr, R. (2020). Microbial diversity of Livanjski cheese with the emphasis on lactic acid bacteria based on culture-dependent and sequencing method. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 202-214.
- 369.** Vuyst, L. D., Avonts, L., & Makras, L. (2004). Probiotics, prebiotics and gut health. *Functional foods, Ageing and Degenerative Disease*, 416-482.
- 370.** Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 133-139.
- 371.** Wassie, M., & Wassie, T. (2016). Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw cow milk. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 3(8), 44-49.
- 372.** Welman, A. D., & Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 21(6), 269-274.
- 373.** Werrie, P. Y., Burgeon, C., Le Goff, G. J., Hance, T., & Fauconnier, M. L. (2021). Biopesticide trunk injection into apple trees: a proof of concept for the systemic movement of mint and cinnamon essential oils. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- 374.** Widyastuti, Y., & Febrisiantosa, A. (2014). The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 2014.
- 375.** Wu, Y., Zhou, T., Tang, H., Li, X., Chen, Y., Zhang, L., & Zhang, J. (2020). Probiotic potential and amylolytic properties of lactic acid bacteria isolated from Chinese fermented cereal foods. *Food Control*, 111, 107057.

376. Xue, Z., Hessler, C. M., Panmanee, W., Hassett, D. J., & Seo, Y. (2013). *Pseudomonas aeruginosa* inactivation mechanism is affected by capsular extracellular polymeric substances reactivity with chlorine and monochloramine. *FEMS microbiology ecology*, 83(1), 101-111.
377. Yang, F., Hou, C., Zeng, X., & Qiao, S. (2015). The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets. *Pathogens*, 4(1), 34-45.
378. Yang, J., Tan, H., & Cai, Y. (2016). Characteristics of lactic acid bacteria isolates and their effect on silage fermentation of fruit residues. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5325-5334.
379. Yang, S. J., Kim, K. T., Kim, T. Y., & Paik, H. D. (2020). Probiotic properties and antioxidant activities of *Pediococcus pentosaceus* SC28 and *Levilactobacillus brevis* KU15151 in fermented black gamju. *Foods*, 9(9), 1154.
380. Yangilar, F., & Yildiz, P. O. (2018). Effects of using combined essential oils on quality parameters of bio-yogurt. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13332.
381. Yelnetty, A., Purnomo, H., & Mirah, A. (2014). Biochemical characteristics of lactic acid bacteria with proteolytic activity and capability as starter culture isolated from spontaneous fermented local goat milk. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(10), 137-146.
382. Yerlikaya, O. (2019). Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis ssp. lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 124-134.
383. Yerlikaya, O., & Akbulut, N. (2019). Potential use of probiotic *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* strains in Izmir Tulum cheese as adjunct culture. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 2175-2185.
384. Yerlikaya, O., & Akbulut, N. (2020). Identification, biochemical and technological properties of *Enterococcus* species isolated from raw milk and traditional dairy products. *Ukrainian Food Journal*, 9(4), 809-934.
385. Yerlikaya, O., Saygili, D., & Akpinar, A. (2020). Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology*, 41, 418-425.
386. Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1121-1135.
387. Zanutto-Elgui, M. R., Vieira, J. C. S., do Prado, D. Z., Buzalaf, M. A. R., de Magalhães Padilha, P., de Oliveira, D. E., & Fleuri, L. F. (2019). Production of milk peptides with antimicrobial and antioxidant properties through fungal proteases. *Food Chemistry*, 278, 823-831.

- 388.** Zarour, K., Prieto, A., Pérez-Ramos, A., Kihal, M., & López, P. (2018). Analysis of technological and probiotic properties of Algerian *L. mesenteroides* strains isolated from dairy and non-dairy products. *Journal of Functional Foods*, 49, 351-361.
- 389.** Zergoug, A (2017). Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires. Thèse de doctorat université abdelhamid Brnbadis Mostaghanem. 166 pages.
- 390.** Zhang, C., Fan, L., Fan, S., Wang, J., Luo, T., Tang, Y., ... & Yu, L. (2019). *Cinnamomum cassia* Presl: a review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Molecules*, 24(19), 3473.
- 391.** Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., ... & Li, S. (2013). Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54, 270-275.
- 392.** Zheng, Y., Lu, Y., Wang, J., Yang, L., Pan, C., & Huang, Y. (2013). Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan kefir grains. *PloS One*, 8(7), e69868.
- 393.** Zhou, J. S., Pillidge, C. J., Gopal, P. K., & Gill, H. S. (2005). Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 98(2), 211-217.
- 394.** Ziadi, M., M'hir, S., Dubois-Dauphin, R., Chambellon, E., Yvon, M., Thonart, P., & Hamdi, M. (2016). Analysis of volatile compounds, amino acid catabolism and some technological properties of *Enterococcus faecalis* strain SLT13 isolated from artisanal Tunisian fermented milk. *Microbiology Research Journal International*, 1-12.
- 395.** Zitoun, O. A., Benatallah, L., Ghennam, E., & Zidoune, M. N. (2011). Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9(2 part 1), 96-100.
- 396.** Zolfaghari, A., & Ansari, S. (2020). Physicochemical and microbiological properties of Chaerophyllum, Oliveria and Zataria essential oils and their effects on the sensory properties of a fermented dairy drink, 'doogh'. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1540-1555.
- 397.** Zommiti, M., Bouffartigues, E., Maillot, O., Barreau, M., Szunerits, S., Sebei, K., ... & Ferchichi, M. (2018). *In vitro* assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16 isolated from artisanal Tunisian meat "Dried Ossban". *Frontiers in Microbiology*, 9, 2607.
- 398.** Zommiti, M., Cambronel, M., Maillot, O., Barreau, M., Sebei, K., Feuilloley, M., ... & Connil, N. (2018). Evaluation of probiotic properties and safety of *Enterococcus faecium* isolated from artisanal Tunisian meat "Dried Ossban". *Frontiers in Microbiology*, 9, 1685.
- 399.** Zuo, F. L., Feng, X. J., Chen, L. L., & Chen, S. W. (2014). Identification and partial characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional dairy products produced by herders in the western Tianshan Mountains of China. *Letters in Applied Microbiology*, 59(5), 549-556.

Annexes

Annexe I. Composition des milieux de culture et du tompon

La composition est indiquée de composition gou ml par litre d'eau distillé

1. Bouillon BGLBB (Brilliant Green Lactose Bile Broth)

- * Digestion enzymatique de caséine10,00g
- * Vert brillant0.0133g
- * Lactose10,00 g
- * Bile de Boeuf.....20,00g

2. Bouillon Fraser

Mileu de Base

- * Protéose peptone.....5,00g
- * Tryptone.....5,00g
- * Extrait de viande « Lab-Lemco ».....5,00g
- * Extrait de levure.....5,00g
- * Chlorure de sodium.....20,00g
- * Hydrogenophosphate disodique.....12,00g
- * Dihydrogenophosphate de potassium.....1,35g
- * Esculine.....1,00g
- * Chlorure de lithium.....3,00g

3. Bouillon Nutritive

- * Peptones.....10,00g
- * Extrait de boeuf1,00g
- * Extrait de levure2,00g
- * Chlorure de sodium.....5,00g

4. Bouillon TSB (Tryptic Soy Broth)

- * Glucose monohydraté2,5g
- * Digestion pancréatique de caséine17g
- * Chlorure de sodium5g
- * Digestion papaique de tourteau de soja3g
- * Hydrogénophosphate dipotassique2,5g

5. Eau péptonée tamponée

- * Peptone10,00g
 - * Chlorure de sodium.....5,00g
 - * Phosphate disodique anhydre.....3,5g
 - * Dihydrogénophosphate de potassium.....1,5g
-

6. Gélose Bark Parker

Milieu de Base

- * Peptone pancréatique de caséine.....10,00g
- * Extrait de viande de bœuf5,00g
- * Extrait de levure1,00g
- * Chlorure de lithium5,00g
- * Glycine12,00g
- * Pyruvate de sodium10,00g
- * Agar20,00g

Le milieu prêt à l'emploi en boîtes de Pétri contient en plus des 950 ml du milieu de base

- * Solution de jaune d'œuf50,00 ml
- * Tellurite de potassium à 10 g/l10,00 ml

7. Gélose hypersaccharosée

- * Extrait de viande 10,00g
- * Extrait de levure3,00g
- * Peptone2.5g
- * Saccharose150,00g
- * K₂HPO₄ 2,00g
- * NaCl..... 1,00g
- * MgSO₄, 7H₂O..... 0.2g
- * Agar..... 15,00g

8. Gélose MH (Mueller Hinton)

- * Peptone17.5g
- * Extrait de viande2,00g
- * Amidon1.5g
- * Agar..... 17,00g

9. Gélose MRS

- * Peptone10,00 g
 - * Extrait de viande8,00 g
 - * Extrait de levure deshydraté4,00 g
 - * Dextrose.....20,00 g
 - * Tween 80 (Sorbitane monoléate)1,00 ml
 - * Hydrogène-orthophosphate dipotassique (K₂HPO₄) 2,00 g
 - * Acétate de sodium trihydraté (H₂CO₂, 3H₂O) ...5,00 g
 - * Citrate de diammonique (C₆H₆O₇ (NH₄)₂)2,00 g
 - * Sulfate de magnésium hydraté (HOSO₄ 7H₂O) ...2,00 g
-

- * Sulfate de magnésium tétrahydraté $MnSO_4, 4H_2O$ 0.5 g
- * Agar-Agar10,00 g

10. Gélose M17

- * Peptone tryptique de caséine2.5 g
- * Peptone pepsique de viande2.5 g
- * Peptone papainique de soja5,00 g
- * Extrait de levure déshydraté..... 2.5 g
- * Extrait de viande5,00 g
- * Glycérophosphate de sodium19,00 g
- * Sulfate de magnésium héptahydraté $MgSO_4, 7H_2O$...0.25g
- * Acide ascorbique0.5 g
- * Agar-agar10,00 g

11. Gélose PALCAM

- * Gélose de base Columbia.....39,00g
- * Extrait de levure.....3,00g
- * Glucose.....0,5g
- * Esculine.....0,8g
- * Citrate de fer ammoniacal.....0,5g
- * Mannitol.....10,00g
- * Rouge de phéno.....10,08g
- * Chlorure de lithium.....15,00g

12. Gélose Sabouraud

- * Digestion peptique de tissus animaux.....5.00g
- * Digestion pancréatique de caséine.....5.00g
- * Dextrose.....40.00 g
- * Gélose.....15.00g

13. Tampon phosphate Salin (PBS)

- * Na_2HPO_4 10.9g
 - * $Na_2H_2PO_4$ 3.2g
 - * NaCl90,00g
-

Annexe II. Les Résultats chifées des expériences

Tableau n°01 : L'activité acidifiante des 21 souches sélectionnées

Souches Lactiques	Activité acidifiante											
	Production d'acide lactique D°						Abaissement de pH					
	0H	Après 2H	Après 4H	Après 6H	Après 24H	Après 48H	0H	Après 2H	Après 4H	Après 6H	Après 24H	Après 48H
LbK126	0	30	50	40	70	120	6,21	6,27	6,47	5,35	4,67	4,51
LbJ19	0	23	68	60	48	40	6,5	6,20	6,20	5,94	4,61	4,45
LbK101	0	40	49	75	145	152	6,5	6,58	6,47	5,29	4,58	3,87
LbD108	0	42	42	57	90	120	6,5	6,41	6,39	5,82	5,14	4,25
LbJ1	0	30	45	58	103	134	6,71	6,34	6,34	5,43	5,01	4,56
LbD29	0	43	43	42	61	100	6,9	6,33	6,32	5,67	5,02	4,56
LbJ14	0	21	41	60	90	97	6,87	6,34	5,87	5,11	4,69	4,59
LbJ7	0	50	63	45	75	120	6,8	6,35	6,35	5,93	5,10	4,43
LbB123	0	40	45	55	100	120	6,81	6,32	6,01	5,10	4,40	4,35
LbZ124	0	35	50	35	94	156	6,31	6,31	6,54	5,28	4,25	4,25
PeJ138	0	30	42	45	108	100	6,83	6,34	6,01	5,23	4,41	4,39
EnJ65	0	20	45	71	100	120	6,71	6,27	6,47	5,23	5,09	4,37
EnJ70	0	35	59	90	126	95	6,50	6,20	6,12	5,29	4,67	4,45
EnB100	0	35	70	110	123	129	6,50	6,41	6,31	5,53	4,81	4,36
EnK104	0	50	65	83	94	126	6,50	6,41	6,39	5,51	4,60	4,52
EnK105	0	30	60	49	122	120	6,71	6,34	6,47	5,29	5,09	4,46
EnK107	0	40	40	72	62	135	6,90	6,33	6,32	5,67	5,02	4,19
EnD119	0	30	30	56	70	93	6,90	6,34	5,87	5,66	4,72	4,59
LcJ26	0	47	50	85	95	135	6,90	6,35	6,35	5,93	5,34	4,53
LcJ45	0	31	30	51	45	117	6,78	6,57	6,57	6,47	4,71	4,35
LcD135	0	43	65	100	123	155	6,93	6,76	6,54	5,14	5,04	5,03

Tableau n°02 : L'activité Lipolytique des 21 souches sélectionnées (zones de lyse en mm)

Souches Lactiques	Activité Lipolytique					
	Huile d'olive			Tween 80		
	1%	3%	5%	1%	3%	5%
LbK126	10	13	8	8	8	8
LbJ19	17	17	17	8	8	8
LbK101	17	17	17	8	8	8
LbD108	8	17	8	8	8	8
LbJ1	15	15	8	10,5	12	8
LbD29	8	10	15	8	8	8
LbJ14	8	11	16	8	8	8
LbJ7	14	11	8	8	10	10,5
LbB123	13	11	8	14	8	8
LbZ124	13	19	17	10	10	10
PeJ138	16	8	11	11	8	8
EnJ65	14	8	8	8	8	8
EnJ70	17	14	13	8	8	8
EnB100	13	13	14	8	8	8
EnK104	14	13	13	8	8	8
EnK105	11	13	14	11	8	8
EnK107	8	8	8	8	8	12
EnD119	13	13	13	8	12	8
LcJ26	17	15	8	11	10	10
LcJ45	19	15	8	13	8	10
LcD135	16	12	14	8	11	12

Tableau n°03: Les moyennes des taux de survie aux baisses pH après 2 et 3 heures de test et à la bile après 2 et 4 heures de test par les 21 souches sélectionnées

	PH			Bile		
	pH1	pH2	pH3	0,3%+pH2	0,3%+pH2,5	0,3%+pH6,5
LbK126	83.35%	88.10%	88.75%	86.19%	88.07%	87.96%
LbJ19	84.60%	86.53%	88.26%	78.21%	84.43%	88.76%
LbK101	83.07%	83.60%	87.30%	85.81%	86.46%	89.72%
LbD108	00%	85.16%	77.35%	81.00%	82.43%	88.34%
LbJ1	90.88%	88.51%	89.89%	91.51%	91.83%	92.24%
LbD29	81.47%	82.43%	88.42%	70.99%	83.88%	87.61%
LbJ14	33.34%	80.08%	83.58%	72.45%	83.38%	89.39%
LbJ7	77.51%	82.25%	82.79%	70.99%	89.14%	86.94%
LbB123	85.67%	87.05%	87.70%	86.41%	87.70%	90.41%
LbZ124	79.19%	80.50%	89.54%	84.20%	85.20%	89.20%
PeJ138	83.15%	86.78%	86.41%	83.97%	85.03%	86.41%
EnJ65	79.67%	80.08%	00%	00%	00%	87.64%
EnJ70	72.83%	00%	00%	00%	00%	88.76%
EnB100	86.80%	87.16%	87.80%	00%	78.98%	87.67%
EnK104	84.05%	86.60%	87.72%	84.45%	84.32%	81.24%
EnK105	80.12%	86.98%	86.72%	00%	84.64%	87.92%
EnK107	85.34%	87.72%	89.00%	00%	00%	87.08%
EnD119	80.22%	85.39%	85.62%	79.40%	00%	87.14%
LcJ26	87.16%	90.40%	82.84%	81.35%	81.45%	88.48%
LcJ45	87.94%	87.32%	88.81%	68.34%	76.29%	87.30%
LcD135	86.87%	85.54%	87.23%	81.46%	87.03%	89.63%

Tableau n°04 : La production de l'acide lactique (D°) par les douze ferments mixtes en fonction de temps (H)

FM	4H	16H	36H	48H	72H
FM1	30	65	120	101	113
FM2	30	60	70	109	110
FM3	30	61	50	81	85
FM4	30	85	150	135	162
FM5	32	77	130	110	90
FM6	22	40	47	60	63
FM7	30	70	56	68	73
FM8	30	30	90	90	90
FM9	31	68	80	61	70
FM10	30	55	70	75	95
FM11	30	50	45	80	91
FM12	30	80	100	122	132

Tableau n°05 : L'évolution de pH de milieu sous douze ferments mixtes en fonction de temps (H)

FM	4H	16H	36H	48H	72H
FM1	6,19	4,96	4,45	4,12	3,99
FM2	6,32	5,88	4,5	4,17	4,02
FM3	6,24	5,46	4,99	4,73	4,34
FM4	6,31	5,04	4,43	4,23	4,08
FM5	6,24	4,37	4,25	4,46	4,44
FM6	6,52	5,82	4,94	4,3	4,39
FM7	6,29	5,51	5,21	4,81	4,42
FM8	6,27	5,11	4,5	4,38	4,37
FM9	6,31	5,35	4,85	4,68	4,49
FM10	6,38	5,46	4,57	4,66	4,31
FM11	6,23	5,23	4,93	4,59	4,2
FM12	6,36	5,23	4,48	4,19	4,01

Tableau n°06: Les scores moyens des caractéristiques biotechnologiques de douze ferments mixtes

FM	LC 10%	HO 1%	HO 3%	HO 5%	T80 1%	T80 3%	T80 5%	LC 12%	LC A
FM1	8	13	11	12	13	14	12	++	+
FM2	12	13	11	12	15	13	10	+	+
FM3	8	17	8	16	16	15	10	++	+
FM4	14	16	11	10	11	13,5	10	+	-
FM5	20	15	15	13	5	13,5	11	+	+
FM6	0	10	11	10	11	8	15	+/-	+
FM7	8	12	0	8	10	0	0	++	-
FM8	8	11	0	7	0	0	0	+/-	+
FM9	8	14	0	12	0	0	0	+/-	+
FM10	0	13	14	0	0	0	0	+/-	+
FM11	0	12	11	10	0	0	0	+	+
FM12	0	10,5	11	0	0	0	0	+/-	+

Figure n°07 : Les valeurs de pH et d'acide lactique (g/l) des fromages élaborés pendant les 21 jours de conservation

	CW				FC1				FC1+CCEO				FC2				FC2+CCEO			
	J0	J7	J14	J21	J0	J7	J14	J21	J0	J7	J14	J21	J0	J7	J14	J21	J0	J7	J14	J21
pH	6,54	/	/	/	5,71	5,8	5,65	4,85	6,1	6,12	5,93	5,81	5,9	5,85	5,36	4,73	5,84	5,72	5,63	5,03
Production d'acide lactique (g/l)	1,50g	/	/	/	1,78	0,76	0,70	0,67	1,30	0,68	1,02	1,01	1,54	0,70	0,78	0,81	1,60	0,90	1,00	0,79

Tableau n°08 : Taux de survie des BL (log UFC/g) au cours des jours de stockage des fromages fabriqués

Echantillon	J0	J7	J14	J21
FC1	9,25	8,79	8,96	8,93
FC1+CCEO	9,25	8,85	9	8,8
FC2	9,23	9	8,21	8,08
FC2+CCEO	9,17	8,83	8,15	8,55

Tableau n°09 : Les moyennes de l'acceptabilité générale ± écarte type des fromages fabriqué avec les levains lactiques additionné ou non avec HECC

Echantillon	FC1	FC1+CCEO	FC2	FC2+CCOE	SD1	SD2	SD3	SD4
J0	7,84583333	3,792	7,016	6,452	0,61572097	0,82103593	2,1415882	1,01411702
J7	8,864	5,568	8,932	6,632	0,50980388	1,12276445	0,48280431	1,04830021
J14	6,984	7,096	2,876	7,828	0,33625387	0,18814888	0,92298429	0,16206994
J21	4,464	7,54	1,42	7,944	0,72564913	0,42914644	0,71705416	0,18275667

Annexe III. Fiche de Dégustation de fromage

Nom et Prénom :

Date de dégustation :

	FC1	FC1+CCEO	FC2	FC2+CCEO
Description de l'apparence extérieure <ul style="list-style-type: none">* Surface* Forme* Couleur				
Description de la pâte à la coupe <ul style="list-style-type: none">* Premier renseignement sur la texture* Couleur (Blanc, Blanc crème, crème, Jaune, pale)* Elasticité (Elastique, Souple, Sableux, Cassant, Friable, Tartinable, crémeux)* Homogénéité				
Description de l'arôme par nez et encours de mastication <ul style="list-style-type: none">* Lactique (Lait frais, Beurre, Petit lait, yogourt)* Animal* Epicé (Poivre, Vanille, Cannelle)* Arôme particulière Description de la Saveur <ul style="list-style-type: none">* Sucrée* Acide* Salée* Amère				
Description finale en Bouche <ul style="list-style-type: none">* Riche en Arôme* Intense en goût* Persistante* Plutôt courte* Arrière-goût				
Meilleur Fromage				
Note/10				

Annexe IV. Production scientifique

1. Communications

1.1. Congrès internationaux avec comité de lecture

- * **Metrouh Roumaissa**, Zouari Souad, Mechai Abdelbasset : Inhibition des bactéries multirésistances aux antibiotiques par les bactéries lactiques autochtones isolées de produits laitiers Algériens. 30th international congress of the Tunisian Society of Biological Sciences (ATSB), Sousse, Tunisia on 25-28 March 2019.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaïda, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: Application of autochthonous Lactic acid bacteria as starter culture in Algerian cheese preparation. 1st International E-Day on Microbial Biotechnology, Department of Natural Sciences and Life & Laboratoire de Bioinformatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules (BMAB), Université M'Hamed BOUGARA de Boumerdès , Algeria on 18 November 2021.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaïda, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: Characterization of Lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional cheeses. Internation "Microbes for life" Webinar, LBSM laboratory and the Ecole Normale Supérieure Cheikh Mohamed Bachir Al Ibrahimî de Kouba, Algeria on 20-22 October 2021.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaïda, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: Use of *cinnamon cassia* essential oil to increase the security of fresh cheeses manufactured with selected Lactic acid bacteria. The 1st International Seminar on Pollution, Health, Environment and Biomonitoring, University 20 August 1955 – Skikda- Faculty of Sciences- Department of Natural and Life Sciences Skikda, Algeria on 27-28 December 2021.

1.2. Congrès nationaux avec comité de lecture

- * **Metrouh Roumaissa**, Mechai Abdelbasset, Zerifi Saida, Debabza Manel : caractérisation d'un fromage artisanal Jbeñ fabriqué dans la région de Tébessa. La première journée scientifique sur la biodiversité, des gènes aux écosystèmes : méthodes innovantes d'évaluation on 6 Octobre 2019. Tébessa- Algérie.
 - * **Metrouh Roumaissa**, Fares roufaïda, Zouari Souad, Mechai Abdelbasset, Debabza Manel : Contribution à l'étude de l'activité antagoniste de quelques souches lactiques isolées. Séminaire National Etat de la biodiversité dans les parcours steppiques : inventaire et valorisation on 28-29 Octobre 2019, Tébessa, Algérie.
 - * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaïda, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: Synergistic Antifungal activity of lactic acid bacteria and Essential oil from *Cinnamon cassia*. 1er séminaire national sur la biotechnologie des plantes Médicinales et leurs implications dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire. Université Larbi Ben
-


Mhidi Oum El Bouaghi- Laboratoire des Substances Naturelles, Molécules Bioactives et Application biotechnologiques on 13-14 Decembre 2021.

- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaida, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: Isolation of bacteriocines produced by autochthonous lactic acid bacteria: characteristics and role in food biopreservation. Second National webinar on Biodiversity, Biochemistry & Environmental Microbiology. University of Laghouat on 17 Octobre 2021.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaida, Mechai Abdelbasset, Et Debabza Manel : " *In vitro*" évaluation de la nature de l'activité antimicrobienne contre les Gram- multi résistance et détermination de la composition chimique de l'huile essentiel de " *Cinnamon cassia* ". 1er Séminaire National de Biologie Végétale et Environnement « SNBVE 2021 Souk-Ahras, Algérie on 24-25 Novembre 2021.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaida, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: FUNCTIONAL ROLES OF LACTIC ACID BACTERIA IN CHEESE PRODUCTION. 1er Séminaire National sur les Substances Naturelles, Biotechnologie et Innovation SNBI. Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila on 26-27 Octobre 2021.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaida, Mechai Abdelbasset, And Debabza Manel: Biological control of Dairy products with Essential oils. Séminaire National sur Les Applications Biotechnologiques en Agriculture (SNABA, 2021). Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila on 10 Novembre 2021.
- * **Metrouh Roumaissa**, Fares Roufaida And Mechai Abdelbasset : Bioactive compounds and beneficial effects of *Cinnamon cassia* essential oil. Le 1er séminaire national en ligne sur Les Produits Bioactifs et Valorisation de la Biomasse (SNPBVB. Ecole Normale Supérieure Cheikh Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi – Kouba- Laboratoire de Produits Bioactif et Valorisation de la Biomasse, LPBVB on 16 et 17 Novembre 2021.

2. Publication

ORIGINAL ARTICLE

Technological properties and probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* SJ14 isolated from Algerian traditional cheese “Jben”

Roumaissa Metrouh | Roufaida Fares | Abdelbasset Mechai  | Manel Debabza |
Taha Menasria

Laboratory of Bioactive Molecules and Applications, Department of Applied Biology, University of Larbi Tebessi, Tebessa, Algeria

Correspondence

Abdelbasset Mechai, Laboratory of Bioactive Molecules and Applications, Department of Applied Biology, University of Larbi Tebessi, Tebessa 12002, Algeria.
Email: abdelbasset.mechai@univ-tebessa.dz

Abstract

A new *Lactiplantibacillus* strain isolated from Algerian traditional cheeses “Jben” was assessed for technological properties and probiotic traits in vitro including acidification, proteolytic and lipolytic activities, exopolysaccharide production, and antimicrobial potential. The strain was identified as *Lactiplantibacillus plantarum* SJ14 using phenotypic tests and 16S rDNA sequencing analysis. The results showed that the native food strain SJ14 was found to be tolerant to acid and bile salts mimicking human GIT conditions. In addition, the cell-free supernatant of SJ14 exhibited broad-spectrum antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria including beta-lactamases-producing enteropathogenic strains as well as food spoilage fungi. The results conveyed that *L. plantarum* SJ14 showed desirable probiotic characteristics and its presence in cheese could serve as a potent functional probiotic starter in food processing.

Novelty impact statement: In Algeria, milk fermentations are still driven by indigenous microorganisms, which influence the nutritional, organoleptic, and safety of the final products. Lactic acid bacteria including *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from traditional cheese “Jben” may present good candidates for further studies to elucidate the possible application as novel probiotic starter culture and biocontrol agent.

1 | INTRODUCTION

Traditional fermented dairy products have contributed to availability of food in Algeria for centuries and artisanal cheese continues to enjoy a special place among various fermented milk preparations. These artisanal products were highly appreciated and were essentially made in rural areas for domestic and home consumption (Tadjine et al., 2020). They have played and still play a major role in people's diet.

“Jben” a soft cheese traditionally manufactured with raw cow, goat, or sheep milk in some areas of the far Northeastern of Algeria (Mechai et al., 2014). The manufacture of “Jben” involving coagulation and draining. Raw milk is collected in an earthenware vessel

and undergoing a spontaneous fermentation during 24–36 hr at ambient temperature (25–30°C) until coagulation. This step may be accelerated using of vegetable rennet from cardoon flowers (*Cynara cardunculus* L.) (Benheddi & Hellal, 2019), artichoke flowers (*Cynara scolymus*), latex of the fig (*Ficus carica*) (Nouani et al., 2009), and a homemade bovine rennet (dried and salted bovine abomasums) (Leksir et al., 2019). The formed curd is transferred to a bag of muslin cloth that is tied and hung to drain for 2 to 3 days. A good consistency of the final product is obtained by extending the drainage period up to 10 days. Once the draining process is complete, the cheese is ready to be cut into large pieces and, to enhance the flavor of the final product, aromatic plants (garlic, parsley, or pepper) can be used (Figure 1).