



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE.

***MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE MASTER***

Filière : Microbiologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

***Essai de fermentation et de stabilité des bactéries
lactiques dans différentes matrices alimentaires***

Présenté par :

SAADA Naima.

SAHIR Mahdia.

TONKIN Nacera.

Jury composé de :

Mr MOUALEK I.	Président	Maitre de Conférences classe A à l'UMMTO
M^{me} BENAHMED DJILALI A.	Promotrice	Professeur à l'UMMTO
M^{me} TABLI N.	Examinatrice	Maitre de Conférences classe B à l'UMMTO
Mr DAHMANI M.S	Co- promoteur	Doctorant à l' UMMTO

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Au terme de ce travail nous remercions :

En premier lieu le Bon DIEU, le tout puissant de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier, qui nous a guidé pour la réalisation de ce modeste travail.

*Nous tenons avant tous à remercier notre promotrice, madame **BENAHMED DJILALI. A,** qui a accepté de nous encadrer, qui nous a guider par ses précieux conseils et suggestions pertinentes et nous a bien expliquer les étapes de ce travail. Quoi que nous disions, les mots ne sauraient exprimer nos profondes gratitude pour avoir dirigé ce mémoire. Nous la remercions vivement d'avoir suivi et orienter ce travail.*

Nous tenons également à remercier les membres de Jury d'avoir bien voulu examiner ce travail.

Nos remerciements vont à tous le personnel du laboratoire de Microbiologie et Chimie-physique de 2^{ème} étage de département de biologie de l'UMMTO.

En fin, nous remercions tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, trouvent ainsi l'expression de nos profondes gratitude et respects.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire qui est le fruit de tout un long chemin d'études

A mes parents qui ont été toujours à mes côtés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études.

A ma petite sœur adorable Karima, ma belle-sœur Dihia et mes deux frères Tewfik et El-Hocine.

A toute la famille Saada ainsi que toute la famille Touchi.

Et spécialement à mon binôme Nacera et Mahdia.

Mes amis rencontrés durant cette période, Kenza, EL-Djouher, Lila, Feryel, Imene, Sarah, Yasmine, Sofiane, Mourad, Ramzi, Younes, Mouhande Akli, Mouhamed Said et tous mes amis de la résidence universitaire TAMDA 3.

A ceux qui ont pris une place dans mon cœur et je n'ai pas cité bien sûr ne croyez pas que je vous ai oublié je vous porte toujours dans mon cœur.

Naima

Dédicaces

Je dédie ce mémoire En premier lieu à vous mes très chers parents, pour votre soutien et votre confiance, aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer ma considération et l'amour éternel et pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

A mon très cher unique frère ANIS

A toute ma famille SAHIR

A ma meilleure amie SIHAM

A tous mes amis qui tout au long de mon mémoire m'ont encouragé.

A Madame BENAHMED DJILALI A. qui m'a encadré durant ce travail.

A mon binôme NACERA et NAIMA ainsi que leurs familles.

Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Mahdia

Dédicaces

Je dédie ce travail ;

A la plus merveilleuse des mamans, qui m'as toujours soutenus et m'as bénie par ses prières à qui j'ai envie d'exprimer toute ma gratitude, toi qui m'a épauler et aider dans les pires moments. Merci d'avoir toujours cru en moi.

A mon très cher père, de tous les pères tu as toujours été le meilleur, toi qui m'as appris la persévérance et la patience, aujourd'hui je le dit avec fierté cela n'est que le fruit de ton éducation, ta confiance et ton amour.

A vous, mes chers frères : Amar, Hakim et Farid et à mes adorables sœurs Célia et Farida merci pour votre soutien et votre bienveillance.

A ma famille, grands et petits.

A mon binôme et amies Mahdia et Naima.

A tous mes amis qui ont fait de ma vie d'étudiante un énorme plaisir ; ainsi que toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près pour réaliser ce travail.

Nacera

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Résumé

Abstract

Introduction générale..... 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la plante de GOMBO (*Abelmoschu esculentus L.*)

1. Origine	2
2. Description botanique	2
3. Classification.....	2
4. Composition biochimique	3
5. Bienfaits	4

Chapitre II : Généralités sur la graine de lin (*Linum usitatissimum L.*)

1. Description botanique.....	5
2. Classification	5
3. Composition biochimique	6
4. Utilisation	7

Chapitre III : Généralités sur les bactéries lactiques

1. Historique.....	8
2. Définition et propriétés	8
3. Origine et habitat.....	9
4. Classification.....	9
5. Notion de prébiotique.....	10
6. Notion de probiotique	10
7. Intérêts.....	11

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude	13
2. Objectif de l'étude.....	13
3. Matériel	13
2.1. Matériel biologique	13
2.2. Matériel végétal.....	13
4. Protocole expérimentale.....	14
4.1. Préparation du gel de gombo.....	14
4.2. Préparation de la poudre des graines de lin.....	15
5. Cinétique de croissance des bactéries lactiques dans les différentes matrices alimentaires .	15
5.1. Préparation de la préculture.....	15
5.2. Réalisation des essais de coagulation dans les différentes matrices alimentaires prébiotiques).....	16
5.3. Mesure de la densité optique (DO)	17
5.4. Mesure de volume de synérèse (lactosérum)	17
5.5. Séchage et caractérisation des poudres de (probiotiques plus prébiotiques).....	18
5.6. Observation microscopique	18
5.7. Dénombrement	18
5.8. Détermination du pH	19
6. Dosage des flavonoïdes.....	19
7. Activité anti-oxydante	20
8. Antibiogramme	22
9. Activité antimicrobienne.....	23
10. Détermination des groupements fonctionnels par IR.....	25
11. Détermination de la structure microscopique par le MEB.....	25

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Résultats de la croissance des bactéries lactiques dans les différentes matrices alimentaires	27
2. Résultats des flavonoïdes des mixtures (prébiotiques et probiotiques)	28
3. Résultats de l'activité antioxydante	29

4. Résultats de séchage des quatre mixtures	30
5. Résultats de l'observation microscopique.....	30
6. Résultats de dénombrement des bactéries lactiques dans les différentes mixtures en poudres	31
7. Résultats du pH	32
8. Résultats de l'antibiogramme.....	32
9. Résultats de l'activité antimicrobienne	32
10. Résultats d'analyse des groupements fonctionnels par IR	33
11. Résultats d'analyse de la microstructure par le MEB	40
12. Résultats de coagulation du lait par les mixtures après trois mois de conservation à température ambiante	42
Conclusion	44
Références bibliographiques	45

Annexes

Liste des abréviations

DO : Densité optique

BL : Bactéries lactiques

DPPH : 2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyl

MRS : Man Rogosa , Sharpe

NM : nano mètre

MH : Mueller-Hinton

Liste des tableaux

Tableau I : Indice nutritionnel brute de 100g de gombo	3
Tableau II : Composants de 16g des graines de lin	6
Tableau III : Préparation de la préculture des différentes matrices.....	15
Tableau IV : Essais de coagulation.....	16
Tableau V : Extraits utilisés dans le test du DPPH.....	21
Tableau VI : Certains paramètres biochimiques des mixtures prébiotiques et bactéries lactiques élaborées.....	26
Tableau VII : Nombre d'UFC/g des bactéries lactiques dans les différentes mixtures	31
Tableau VIII : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des mixtures fermentées à base de bactéries lactiques et du gel du fruit de gombo	34
Tableau IX : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des mixtures fermentées à base de bactéries lactiques et du gel de tige de gombo	35
Tableau X : Fréquences caractéristiques des groupements organiques des mixtures fermentées à base de bactéries lactiques et du gel de tige de gombo et la poudre des graines de lin.....	36
Tableau XI : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des mixtures fermentées à base de bactéries lactiques et du lait	37
Tableau XII : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des ferments lactiques.....	38
Tableau XIII : Comparaison des fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des mixtures fermentées	39
Tableau XIV : Essais de coagulation des mixtures fermentées dans le lait après trois mois de conservation	43

Liste des figures

Figure 01 : Différentes parties de gombo.....	2
Figure 02 : Aspect des parties de la plante de lin.....	5
Figure 03 : Diagramme d'utilisation de lin.....	7
Figure 04 : Schéma montrant l'arbre phylogénétique des bactéries lactiques y compris des genres apparentés	10
Figure 05 : Différentes utilisations industrielles des bactéries lactiques	12
Figure 06 : Matériel végétal utilisé	14
Figure 07 : Gel extrait de tiges et de fruits de gombo.....	14
Figure 08 : Aspect de la poudre des graines de lin... ..	15
Figure 09 : Ensemble des flacons des matrices fermentées	17
Figure 10 : Flacon de mixture du lait et des bactéries lactiques après 2h de coagulation	17
Figure 11 : Solution de DPPH.....	21
Figure 12 : Protocole du test de DPPH	22
Figure 13 : Courbes de croissance des bactéries lactiques dans les différentes matrices	27
Figure 14 : Histogramme des concentrations en flavonoïdes des différentes matrices fermentées estimées en (mg Equivalent Quercetine /g d'extrait).....	28
Figure 15 : Inhibition du radical DPPH (%) par les extraits aqueux des mixtures.....	29
Figure 16 : Ensemble de poudres des matrices fermentées obtenues	30
Figure 17 : Observation microscopique des matières sèches obtenues à t=0	30
Figure 18 : Observation microscopique des matières sèches obtenues à t= un mois	31
Figure 19 : Observation des boîtes de Pétri sous la lumière bleue de la mixture de gel de tige de gombo et les bactéries lactiques	32
Figure 20 : Spectres d'Infrarouge des mixtures fermentées.....	33
Figure 21 : Microstructures des bactéries lactiques dans les différentes mixtures observées sous le MEB	42

Résumé

L'objectif de notre travail consiste à étudier la possibilité de conserver les bactéries lactiques à température ambiante en utilisant les gels extraits des tiges et de fruit de gombo et la poudre des graines de lin comme prébiotiques.

L'ensemble des tests réalisés révèlent que, les gels étudiés favorisent le développement des bactéries lactiques avec une croissance élevée et la stabilité de leurs structures et leurs groupements fonctionnels dans les matrices confirment la possibilité d'élaborer et conserver les poudres de probiotiques (bactéries lactiques) et prébiotiques (gels extraits des tiges et fruit de gombo) à température ambiante.

Mots clés : Gombo, bactéries lactiques, prébiotiques, séchage, conservation.

Abstract

The objective of our work is to study the possibility of preserving lactic bacteria at room temperature by using gels extracted from Okra stems and fruit and flaxseed powder as prebiotics.

All the tests carried out reveal that, the gels studied promote the development of lactic bacteria with high growth and the stability of their structures and their functional groupings in the matrices confirm the possibility of developing and storing at room temperature probiotic powders (lactic bacteria) and prebiotic (gels extracted from the stems and fruit of okra).

Keywords: Okra ; lactic acid bacteria ; prebiotics ; drying ; conservation.

Introduction

Introduction

L'être humain sert toujours de la nature pour subvenir à ses besoins de base dont l'alimentation. Celle-ci est de plus en plus variée et joue plusieurs rôles tant sur le plan nutritionnel que sanitaire (Gbohaida et *al.*, 2016).

Le gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) est une plante exceptionnelle et originale, toutes ses parties (racines, tige, feuilles, fruits, graines) sont valorisés dans différents domaines alimentaire, médicinal, artisanal et même industriel (Marius et *al.*, 1997).

Le lin (*Linum usitatissimum*) est considérablement employé dans le quotidien de la santé publique et énormément introduit en nutrition animale. Il n'est pas un nouvel aliment, il est l'un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux et précieux en raison de ses propriétés de guérison qui ont fait de lui une plante millénaire aux vertus médicinales.

Les deux plantes sont riches en fibres (prébiotiques) non digestibles qui stimulent la croissance ou l'activité des ferments lactiques (pro-biotiques) et peuvent produire des effets bénéfiques à l'intérieur du tractus gastro-intestinal (Vatakit, & Leenanon, 2017).

Notre travail consiste à étudier la possibilité de fermenter les ferments lactiques (probiotiques) dans différents matrices alimentaires (gels extraits de tiges et fruits de gombo) et leur stabilité à température ambiante.

Le manuscrit est composé de trois parties :

- **La première partie** présente une synthèse bibliographique qui se divise en trois chapitres exposant des notions sur le gombo, le lin et les bactéries lactiques.
- **La deuxième partie** porte sur les manipulations et les expérimentations.
- **La dernière partie** révèle tous les résultats obtenus ainsi que leur discussion, et à la fin, nous terminerons par une conclusion.

Chapitre I :

Généralités sur la plante de gombo

(Abelmoschus esculentus L.)

Chapitre I : Généralités sur la plante de gombo (*Abelmoschus esculentus* L.)

1. Origine

Le gombo est originaire d'Afrique, des rives Alluviales du Nil en Ethiopie. Il s'est répandu sur tous les continents, après sa découverte il y a environ 4000 ans. Le gombo est une espèce de plante tropicale à fleurs botaniquement proche des hibiscus est initialement classée dans le genre *Hibiscus* (El-hociene, 2021).

C'est une plante herbacée annuelle, dont on pense qu'elle est originaire d'Éthiopie et qui est maintenant presque cosmopolite, cultivée dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes, en particulier dans les Caraïbes, l'Amérique du Sud, l'Amérique du Nord, l'Asie, le reste de l'Afrique et la Méditerranée orientale (Jain, et al., 2012).

2. Description botanique

Le gombo « *Abelmoschus esculentus* L. » est une plante herbacée annuelle dressée ou ligneuse à la base pouvant atteindre 3 à 4 m de hauteur, non ramifiée avec un système racinaire bien développé (Menouar, 2015).

La tige et les feuilles (Figure 1) sont recouvertes de poils, désagréables au toucher, un peu irritants. Ses fleurs éphémères, hermaphrodites, axillaires et solitaires (Hamon, 1987).

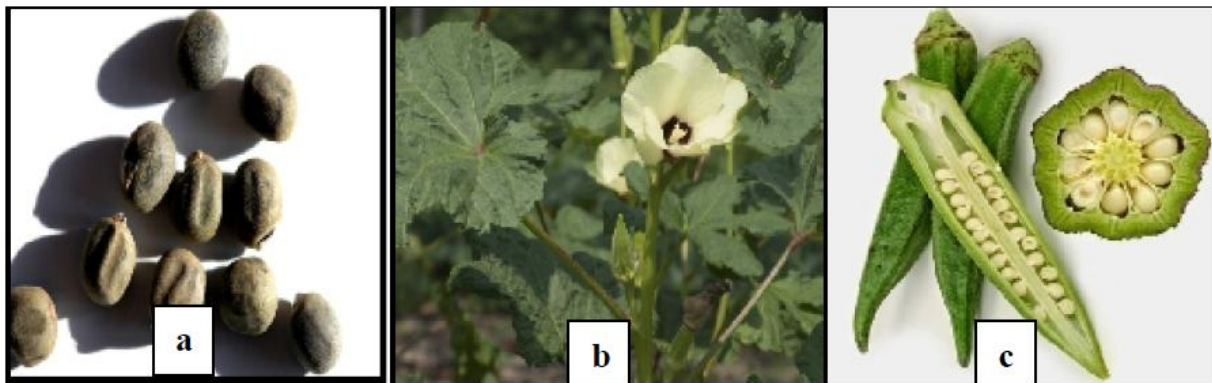


Figure 01 : Différentes parties de gombo : a) graines ; b) Fleurs et c) fruits (Menouar, 2015).

3. Classification

La classification phylogénétique de gombo est décrite par APG III (Angiosperme Group, 2009).

Règne: *Plantae*

Sous-règne : *Viridiplantae*

Chapitre I : Généralités sur la plante de gombo (*Abelmoschus esculentus* L.)

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidées*

Ordre : *Malvales*

Famille : *Malvacées*

Genre : *Abelmoschus*

Espèce : *Esculentus*

5. Composition biochimique

Hamon et *al.* (1991), ont démontré que, le fruit de gombo est riche en glucides (7 à 8 % de la matière sèche) présents sous forme de mucilage.

Le tableau I présente la composition biochimique du gombo.

Tableau I : Indice nutritionnel brut de 100g de gombo (Hamon, 1988 ; Moyin, 2007)

Energie	33kcal
Carbohydrates	7,45kcal
Sucres	1,48g
Fibres alimentaires	3,2g
Gras	0,19g
Protéines	2g
Eau	90,19g
Vitamine A	36µg (7%)
Thiamine (B1)	0,2mg (17%)
Riboflavine (B2)	0,06mg (5%)
Niacine (B3)	1mg (7%)
Vitamine C	23mg (28%)
Vitamine E	0,27mg (2%)
Vitamine K	31,3µg (30%)

Calcium	82mg (8%)
Fer	0,62mg (5%)
Magnésium	57mg (16%)
Potassium	299mg (6%)
Zinc	0,58mg (6%)
Phosphore	56 mg

6. Bienfaits

6.1 Utilisation médicinale

La plante de gombo est très riche en mucilage, ayant plusieurs vertus thérapeutiques citant :

- Ce mucilage peut être utilisé comme remplacement plasmatique (Une infusion des racines est utilisée dans le traitement de la syphilis), il est responsable du lavage des substances toxiques et du mauvais cholestérol.
- Le jus des racines est utilisé extérieurement au Népal pour traiter les coupures, les blessures et les furoncles.
- Ses feuilles fournissent un cataplasme émollient. Une décoction des capsules immatures est utilisée pour le traitement des infections catarrhales, dysurie et gonorrhée.
- Ses graines sont antispasmodiques, cordiales et stimulantes. Une infusion des graines grillées a des propriétés sudorifiques (Franklin et *al.*, 1982).
- Ses fibres spéciales contrôlent le taux de sucre dans le sang, en fournissant une quantité en sucre acceptable pour les intestins.
- Le gombo est également appliqué pour les inflammations pulmonaires, les irritations intestinales et les maux de gorge (Grieve, 1984 ; Chapa et *al.*, 1986).

6.2 Autres utilisations

Les fibres des tiges de gombo récoltées à la fin de l'été ou l'automne sont utilisées pour la fabrication du papier et des textiles (Sathish, et *al.*, 2013).

Chapitre II :

Généralités sur la graine de lin

(Linum usitatissimum L.)

1. Description botanique

Linum usitatissimum L. (Figure 2) est une espèce herbacée annuelle érigée de 30 à 120 cm de hauteur. Les types de lin sont relativement plus gros (80 à 120 cm) et ont des tiges droites, avec moins de branches secondaires vers la partie supérieure de la tige (Gill, 1987).

Les feuilles sont claires, de 20 à 40 mm de longueur et 3mm de largeur. Les fleurs sont voyantes, de forme variée, régulières, hermaphrodites, pentamères, hypogynes et portées en racème terminal lâche ou cyme ouvert de couleur bleue, blanche ou rose.

Le fruit est une petite capsule globulaire ronde lisse de 5-9mm de diamètre. *Linum usitatissimum* L. est la seule espèce avec des capsules non-déhiscentes ou semi-déhiscent cultivée de la famille des *Linacées* (Getinet et nigussie, 1997).



Figure 2 : Aspect des parties de la plante de lin **a) :** fleurs et **b) :** fruits et graines (Heli et *al.*, 2007).

2. Classification

Malgré la diversité remarquable de cette famille, *L. usitatissimum* est la seule espèce cultivée (Bailey, 1976; Cabi, 2018). Selon l'USDA-NRCS (2010), la classification taxinomique du *L. usitatissimum* est la suivante :

- **Règne :** *Végétal*
- **Sous-règne :** *Trachéophytes*
- **Super-embranchement :** *Spermatophytes*
- **Embranchement :** *Magnoliophytes*
- **Classe :** *Magnoliopsides*
- **Sous-classe :** *Rosidées*
- **Ordre :** *Linales*

- Famille : *Linacées*
- Genre : *Linum* L.
- Espèce : *Linum usitatissimum* L.

3. Composition biochimique

La composition des graines de lin varie selon la variété et les facteurs environnementaux (Dau et *al.*, 2003). Le tableau suivant résume les composants des graines de lin (Jennifer, 2015).

Tableau II : Composants de 16g des graines de lin (*Linum usitatissimum* L.).

Constituants	Composition (pour 16 g)
Glucides totaux	4,9 g
Fibres alimentaires totales	4,8 g
Protéines	3,4 g
Acide gras saturés	0,6 g
Acide gras polyinsaturés	5,0 g
Acide gras mono-insaturés	1,3 g
Acide linoléique	1,1 g
Acide alpha-linoléique	4,0g
Calcium	56,8 mg
Magnésium	1,3 mg
Phosphore	109,6 mg
Fer	0,8 mg
Sélénium	4,3 mg
Potassium	141,6 mg
Zinc	0,7 mg
Vitamine C	0,1mg
Vitamine K	0,7 mg
Thiamine	0,3 mg
Niacine	0,5 mg
Vitamine B6	0,36 mg
Folates	14,8 mg

4. Utilisation

L'huile de lin et les semences de lin sont redécouvertes comme réels aliments indispensables à la santé. Ils méritent d'être classés dans la catégorie d'aliments vitaux. Le lin n'est pas un aliment nouveau ; c'est en fait l'un des plus anciens et peut-être l'un des premiers « précieux à cause de ses propriétés curatives », c'est une plante millénaire aux vertus médicinales (Halligudi, 2012). L'utilisation du lin est résumée dans le diagramme suivant (Jhalla et Hall, 2010).

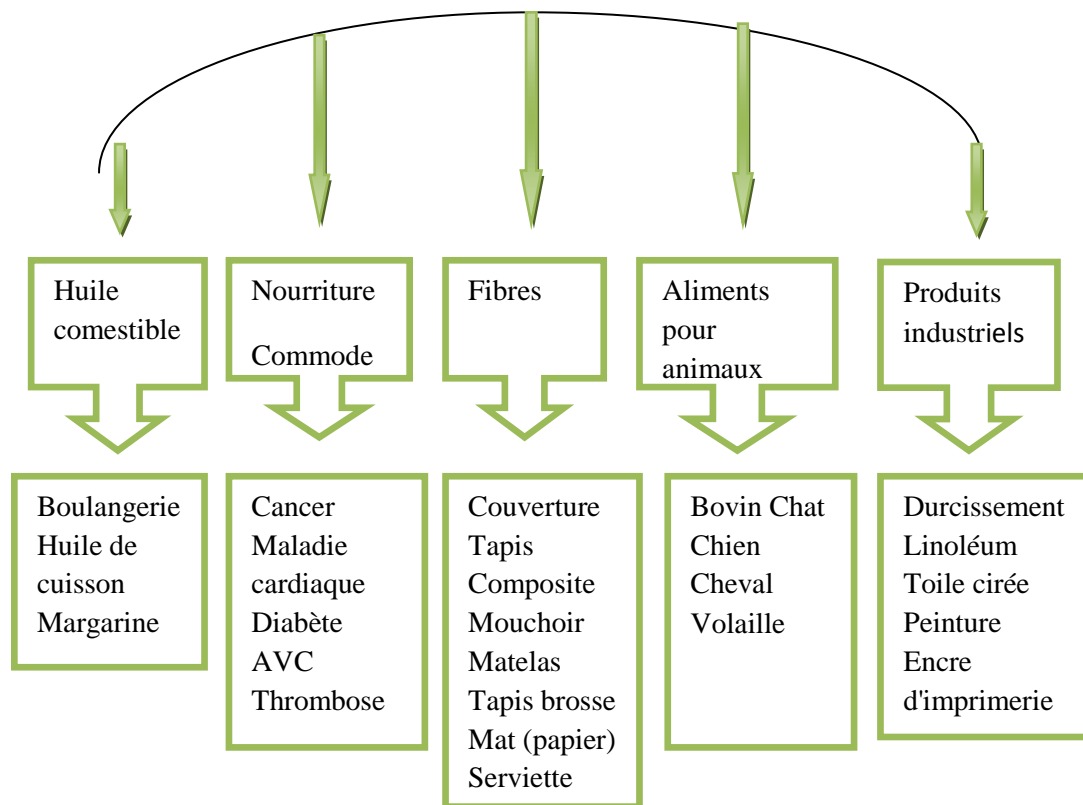


Figure 03 : Diagramme d'utilisation du lin (Jhalla et Hall, 2010).

Chapitre III :

Généralités sur les bactéries lactiques

1. Historique

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes dont l'ancêtre pu voir le jour il y'a trois milliards d'années (avant les cyanobactéries). De nos jours, les bactéries lactiques représentent le deuxième plus grand marché de production de biomasse, après les levures principales utilisées dans l'industrie alimentaire pour la production de la fermentation des aliments et aussi dans l'industrie chimique pour la production de l'acide lactique et de bio polymère et acquièrent depuis quelques années, un rôle croissant en santé humaine et animale (Streit, 2008).

2. Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, se développent à des températures de 10° à 45°C et à des pH acides allant de 4,0 à 4,5.

Ces bactéries sont unicellulaires, procaryotes, hétérotrophes, et chimio-organotrophes formant un groupe hétérogène constitué de cocci et de bacilles (Salmien et al., 2004 ;Konig et Frohlich, 2009 ; Pringsulaka et *al.*, 2011).

Leur division se déroule en un seul plan à l'exception des genres : *Pediococcus*, *Aerococcus*, et *Tetragenococcus*.

Ces bactéries exigeantes n'ont pas de cycle de Krebs, ni de cytoplasme, ni de porphyrines (éléments de la chaîne respiratoire), ne possèdent pas de catalase, ni de nitrate réductase ni l'indole ou l'hydrogène sulfureux (H₂S). Leur croissance nécessite des acides aminés, de base azotée, et des vitamines (Dribine et *al.*, 2018). Elles ne liquéfient pas la gélatine, à l'exception de quelques espèces qui hydrolysent faiblement la caséine (Gonzalez et *al.*, 2000 in Ammor, 2004).

Leur métabolisme et strictement fermentatif, peuvent avoir un métabolisme homo-fermentaire (production de l'acide lactique seulement), hetero-fermentaire strict (production d'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂), hetero-fermentaire facultatif (formation de l'acide lactique ou de l'acide lactique et de l'acide acétique) (Vandamme et *al.*, 1996 ; Mozzi et *al.*, 2016).

Grace à leur pouvoir fermentaire, elles sont utilisées pour la fermentation et la conservation d'aliments, elles sont largement ré pondues dans les industries alimentaires (Mofrej et *al.*, 2007).

3. Origine et habitat

Grace à leur souplesse d'adaptation physiologique, les bactéries lactiques peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique, ils sont donc dites « ubiquitaires ». Dans différents écosystèmes, ces micro-organismes sont capables d'exercer des effets bénéfiques ou plus rarement d'engendrer des altérations biologiques.

La source originale des bactéries lactiques est constituée par les plantes vertes, et suite à des processus d'évolution et d'adaptation, ces bactéries ont colonisé d'autres environnements et se trouvent ainsi dans divers habitats, tant que ceux-ci réunissent les conditions adéquates pour satisfaire leurs besoins nutritifs (Fenton, 1987 ; Kelly et *al.*, 1998 ; Carr et *al.*, 2002)

4. Classification

La systématique est en évolution permanente. Il n'y jamais eu de règles unanimement reconnues sur la façon dont deux bactéries différentes devraient être phénotypiquement classées. Par exemple, qu'elles caractéristiques sont importantes dans la définition des sous-espèces, des espèces et du genre ? La littérature scientifique suit généralement les recommandations des comités de taxonomie qui opèrent sous les auspices de l'Union internationale de Sociétés Microbiologiques (Sneath, 2001).

La première classification de bactéries lactiques basée sur les propriétés observables à savoir les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen. La figure 4 montre l'arbre phylogénique des bactéries lactiques et les différents genres (Axelsson, 2004).

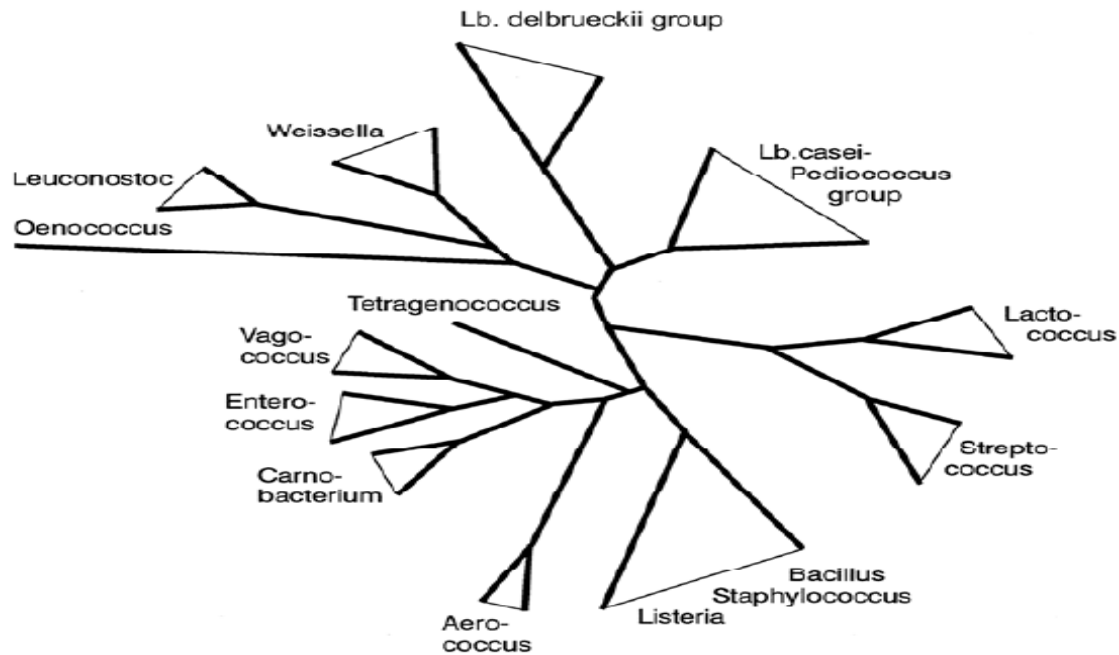


Figure 04 : Arbre phylogénique des bactéries lactiques y compris des genres apparentés (Axelsson, 2004).

5. Notion de prébiotique

Le concept de prébiotique a été proposé pour la première fois par Gibson et Roberfroid (1995). Un prébiotique est défini comme un « composé alimentaire spécifique non-digestible et non-absorbable dans l'intestin grêle, mais fermenté dans le gros intestin ». Cependant, cette définition est régulièrement amendée par la communauté scientifique, qui considère que les prébiotiques sont des substances alimentaires sélectivement fermentées, conduisant à des changements précis, à une modulation et à une stimulation sélective de la composition et de l'activité du microbiote intestinal, conférant des bénéfices sur la santé et le bien-être du consommateur (Roberfroid 2007).

6. Notion de probiotique

Le terme « probiotique » vient du Grec qui signifie « pour la vie », choisi par opposition au terme antibiotique. Dans les années 1950-1960, de nombreux produits « probiotiques » ont été développés, mais l'absence de données rigoureuses sur l'effet clinique a conduit à leur disparition progressive, à l'exception de quelques-uns dont les effets ont été confirmés.

En 2002, la « Food and Agriculture Organization of the United Nations » et la « World Health Organization » (FAO/WHO) proposent une définition officielle du terme « probiotiques » : « Organismes vivants lorsqu'ils sont ingérés en quantité adéquate, peuvent exercer des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte » (FAO/WHO 2002).

La plupart des probiotiques en usage aujourd'hui appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (Hill et al., 2014). Ils sont non-pathogènes, non-putréf actifs, non-toxigéniques et ont des propriétés saccharolytiques, ce qui permet de les considérer comme des bactéries « bénéfiques » pour la santé.

7. Intérêts

Les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs secteurs d'activités notamment dans le domaine de l'agriculture, de la santé de l'industrie agroalimentaire, dans ce dernier secteur elles sont responsables du développement des caractéristiques organoleptiques de l'augmentation de la durée de conservation des aliments.

L'utilisation des ferments lactiques pour la production du fromage et du lait caillé a été introduite presque simultanément par Weigmann (Stiles, et Holzapfel, 1997), mais la première preuve de la fermentation impliquée principalement en Egypte, en Mésopotamie et dans le bassin méditerranéen, d'ustensiles ayant servi à la fabrication des produits laitiers fermentés. De nombreux documents monuments historiques font référence à la production de fromage, de yaourts et de beurre (Muñoz et al., 2010).

Les genres des *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* et *Brevibacterium*, bien que phylo-génétiquement n'appartenant pas aux bactéries lactiques, sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour leurs propriétés similaires aux bactéries lactiques en raison de leur potentiel bénéfique pour la santé, les propriétés de certaines espèces de bactéries lactiques sont actuellement utilisées comme probiotiques (Fuller, 1989). Notamment, les lactobacilles sont utilisées dans les traitements de l'intolérance au lactose, la prévention à la réduction de la durée de diarrhée à rota virus chez l'enfant, diminution du cholestérol, régulation du transit intestinal, rééquilibre de la flore intestinal après une antibiothérapie ou une infection par un pathogène traitement des maladies inflammatoires du tube digestif (Stiles et Hozapfel, 1997).

La Figure 05 montre les différentes utilisations industrielles des bactéries lactiques.

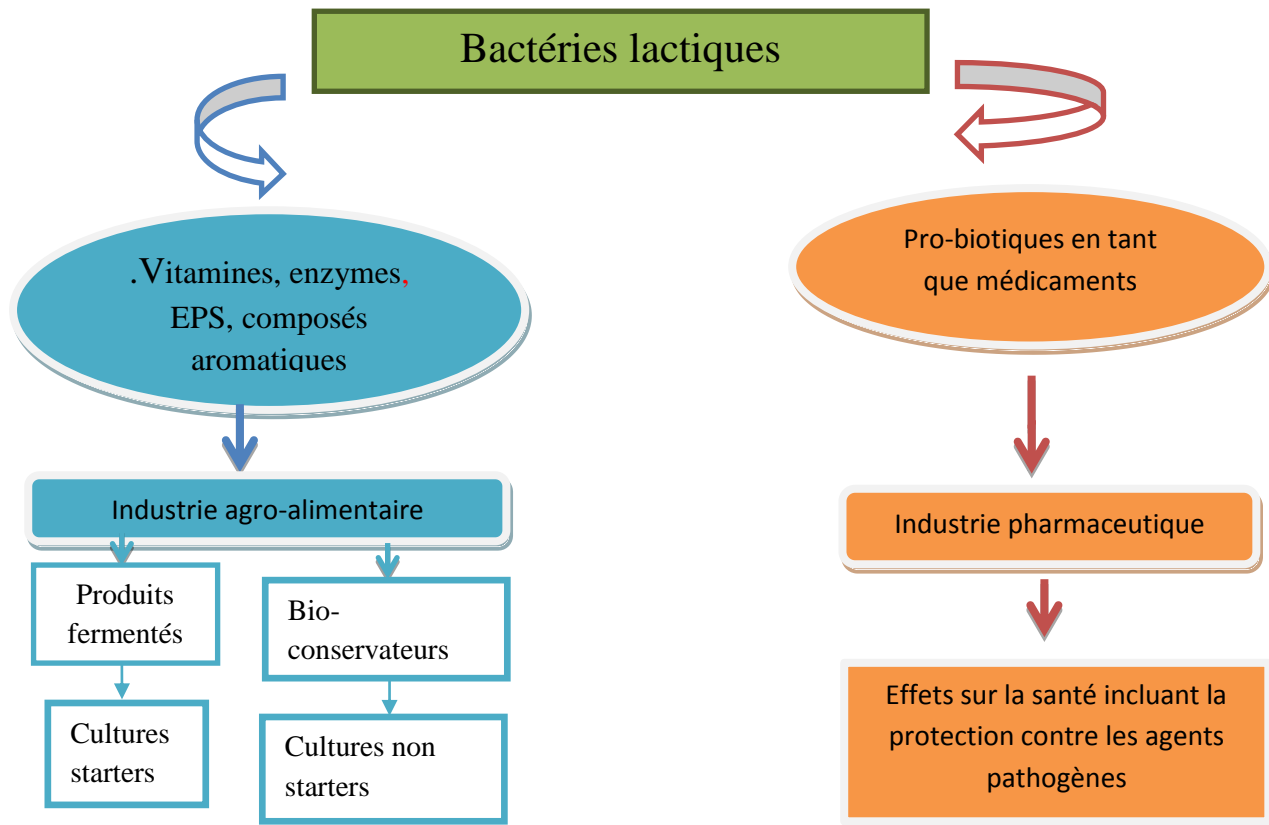


Figure 05 : Différentes utilisations industrielles des bactéries lactiques (Florou-Paneri et *al.*, 2013).

Partie expérimentale

Chapitre IV:

Matériel et Méthodes

1. Cadre de l'étude

Notre travail pratique a été réalisé au niveau des laboratoires communs (I) d'analyses physico-chimiques et au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou durant une période allant du mois de mars au mois de juin 2022.

2. Objectif de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'étudier la possibilité de fermenter les bactéries lactiques dans différentes matrices de prébiotiques (gels extraits des tiges et fruits de gombo) et leur conservation à température ambiante.

3. Matériel

3.1 Matériel biologique

Une mixture de bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) lyophilisées d'origine de la Hollande a été utilisée comme ferments. La quantité utilisée de ces derniers est de 0,15mg nécessaire pour coaguler 50ml du lait et du gel de gombo.

Les souches *S. aureus* ATCS 25923, *E.coli* 25922ATCC ont été délivrées par le laboratoire de microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

3.2 Matériel végétal

Le gombo (*Abelmoschus esculentus L.*) est une plante séchée à l'air libre d'origine de Ghardaïa. Les gels extraits du fruits de gombo et de la chair de ses tiges (Figure 06) sont riches en mucilage ont été utilisés comme matrice de fermentation et de conservation à température ambiante.

La poudre des graines de lin (*Linum usitatissimum L.*) a été aussi utilisée, ces graines ont été achetées chez l'herboriste de la ville de Tizi-Ouzou.



Figure 06 : Matériel végétal **A)** : graines de lin ; **B)**: tiges et chair des tiges de gombo ; et **C)**: fruits de gombo coupés en deux.

4. Protocole expérimental

4.1. Préparation du gel de gombo

Tout d'abord les tiges et les fruits de gombo doivent être bien lavés avant la préparation du gel afin d'éliminer les résidus de la poussière.

La macération de la chair des tiges et de morceaux du fruits de gombo dans l'eau chaude bouillante a été réalisée pendant 15 minutes. A la fin de la macération, nous avons obtenu deux liquides visqueux riches en mucilage d'une couleur marron (Figure 07). La récupération des deux gels de fruits de gombo et de la chair de leur tiges se fait par filtration à l'aide d'une passoire.



Figure 07 : Gel extrait de tiges et de fruits de gombo. **A)** : gel extrait de la chair des tiges de gombo ; **B)** : gel extrait de fruits de gombo.

4.2. Préparation de la poudre des graines de lin

Les graines ont été lavées puis séchées à l'air libre afin de se débarrasser d'excès d'humidité puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine (Figure 8).



Figure 08 : Aspect de la poudre de graines de lin.

5. Cinétique de croissance de bactéries lactiques dans les gels élaborés

5.1 .Préparation des précultures

La préculture des bactéries lactiques dans les différentes matrices alimentaires est présentée dans le tableau ci-dessous

Tableau III : Préparation de la préculture des bactéries lactiques dans les différentes matrices utilisées.

	Quantité des ferments	Milieu de revivification	Temps d'incubation	Température d'incubation
Matrice du lait	0 ,015g	lait	Une heure	45°C
Matrice de gel de la chair de tige de gombo	0 ,015g	Bouillon nutritif (BN)		
Matrice de gel de fruits de gombo				
Matrice de gel de la chair de tige de gombo et la poudre de graine de lin				

5.2. Essais de coagulation

Le tableau ci-dessous représente les essais de coagulation qui ont été faits sur les 4 mixtures. Dans chaque mixture nous avons réalisé quatre flacons de 50ml, pour chaque mixture; trois flacons servent à la densité optique et le quatrième pour suivre la stabilité.

Tableau IV : Essais de coagulation des bactéries lactiques dans les quatre matrices alimentaires.

	Quantité de probiotique (préculture) (ml)	Quantité de prébiotique (ml)	Lait (ml)	Temps de coagulation	T° de coagulation
Mixture 1	10 ml	-	50 ml	2h	45°C
Mixture 2		50 ml d'extrait de la chair des tiges de gombo	-		
Mixture 3		50 ml de gel du fruits de gombo	-		
Mixture 4		50 ml d'extrait de la chair des tiges de gombo plus 1g de poudre de graines de lin	-		

Mixture 1 : lait et les bactéries lactiques; Mixture 2 : gel à base de la chair de la tige de gombo et les bactéries lactiques ; Mixture 3 : gel de fruits de gombo et les bactéries lactiques ; Mixture 4 : gel à base de la chair de la tige de gombo, la poudre de graines de lin et les bactéries lactiques.

5.3. Mesure de la densité optique (DO)

Nous avons suivi la croissance des bactéries lactiques dans les différentes mixtures en mesurant la DO à une longueur d'onde égale à 590nm. Les absorbances des différentes matrices utilisées avant fermentation sont les suivantes :

- Matrice du gel extrait de la chair de la tige de gombo : DO=1,6
- Matrice du gel extrait de la chair de la tige plus la poudre des graines de lin : DO= 0,014
- Matrice du lait : DO=1,07
- Matrice du gel extrait de fruits de gombo : DO= 1,09

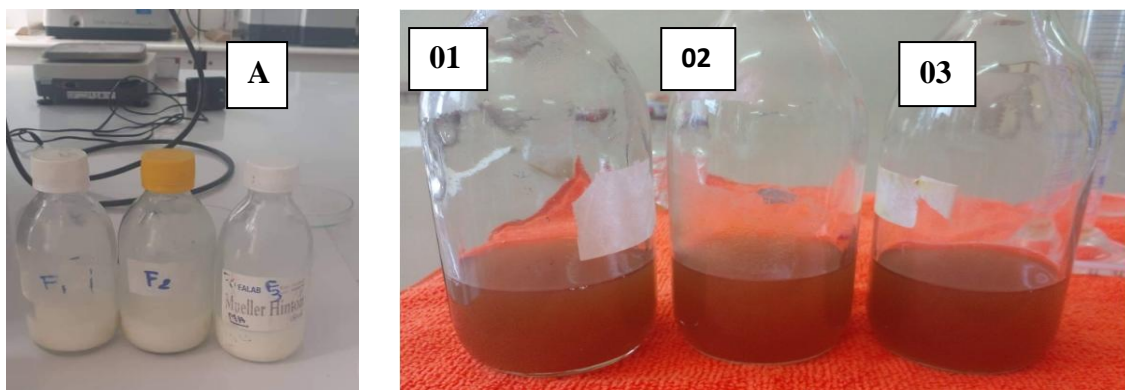


Figure 09 : Ensemble des flacons des matrices fermentées **A** : flacons de mixture de lait et bactéries lactiques ; **01** : mixture du gel extrait de la chair de la tige et BL ; **02** : matrice du gel de la chair de la tige + les graines de lin+ BL ; **03** : matrice de gel extrait du fruit de gombo +BL.

5.4. Mesure du volume de synérèse (lactosérum)

Le volume de synérèse obtenu après la coagulation des mixtures est séparé des caillés obtenus, et pipeté à l'aide d'une pipette Pasteur dans une éprouvette de 10 ml (Figure 10).



Figure 10 : Flacon de mixture du lait et les BL après 2h de coagulation.

5.5. Séchage et obtention des mixtures en poudres

Les culots obtenus après la coagulation des bactéries lactiques dans les différents gels de prébiotiques ont été séchés dans une étuve à 45°C pendant une durée allant de 24h à 48 heures. Les matières sèches obtenues ont été déterminées au moyen d'une balance.

5.6. Observation microscopique

Les poudres des matrices (bactéries lactiques et prébiotiques) ont été revivifiées puis une coloration vitale à l'état frais a été réalisée.

Une goutte d'eau physiologique est déposée sur la lame, une petite quantité de la matière sèche de chaque matrice. a été additionnée et colorée au bleu de méthylène recouvrir par une lamelle et d'une goutte d'huile d'immersion et observer le frottis à l'objectif 100.

5.7. Dénombrement des bactéries lactiques

Principe

Il s'agit de la numérotation des bactéries sur le milieu **MRS** (après le séchage directement $t = 0$ et après un mois de séchage $t = \text{un mois}$) par l'étalement des différentes dilutions de la suspension bactérienne des différentes poudres de mixtures.

Mode opératoire

Préparation des dilutions

Réalisation d'une revivification des matières sèches (poudres des mixtures fermentées).

0.015 g de la poudre sont introduits dans 5 ml de bouillon M17 glucosé puis incubés pendant 24h.

Une série de dilutions a été réalisée (10^{-1} à 10^{-5}) pour chaque suspension de mixture fermentée en poudre. La gélose MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) a été utilisée pour la culture des *Lactobacillus*, et le dénombrement des bactéries lactiques.

L'ensemencement en surface a été adopté : pipeter à l'aide d'une micropipette 0,1 ml du surnageant des dilutions préparées déjà (trois boîtes pour chaque dilution). Et effectuer un

étalement en utilisant un râteau, ensuite porter les boites à l'incubation à 45C°pendant 24 h à 48 h.

Le milieu M17 glucosé : milieu de culture liquide (bouillon) a été utilisé pour le dénombrement et pour la revivification de bactéries lactiques.

Lecture et interprétation

Le comptage des colonies pour chaque boite contenant entre 30 et 300 colonies au maximum a été réalisé.

Le nombre de bactéries par gramme de poudre de mixture a été calculé en utilisant la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\sum c}{Vml (n1 + 0.1n2)d1}$$

N : nombre d'UFC par gramme de produit initial.

c: somme des colonies des boites dénombrables.

n1 : nombre de boites considérées à la première dilution retenue.

n2 : nombre de boites considérées à la seconde dilution retenue.

d: facteur de la première dilution retenue.

V ml: volume de solution déposée par boite.

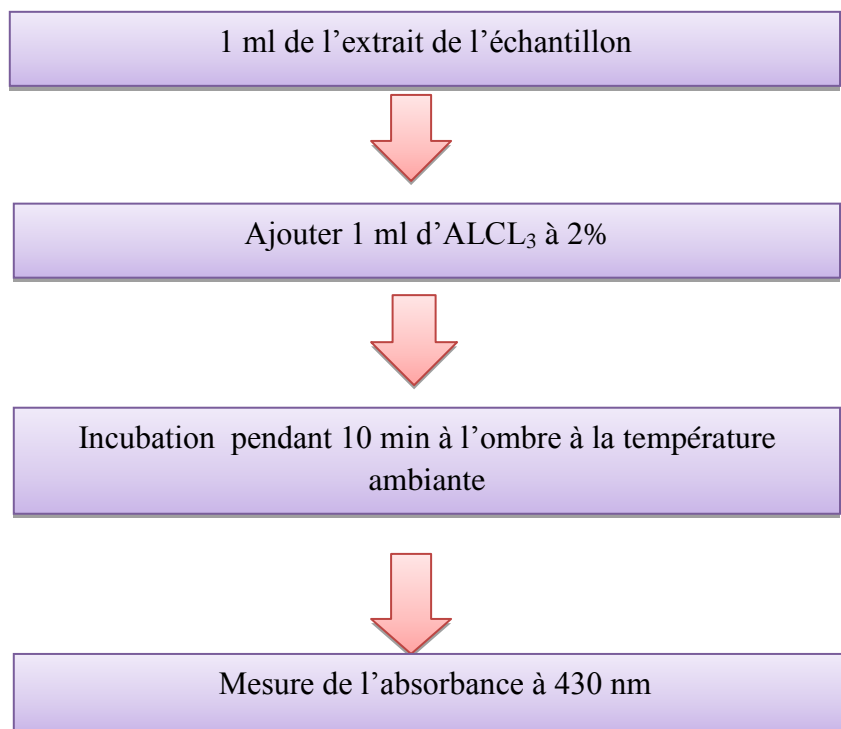
5.8. Détermination du pH

Le pH des extraits des deux gels utilisés du gombo a été mesuré à l'aide d'un pH- mètre.

6. Dosage des flavonoïdes

La méthode trichlorure d'aluminium ALCL₃ (Kosalec et *al.*, 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits des mixtures obtenues.

Les différentes étapes suivies pour le dosage des flavonoïdes sont décrites selon le diagramme suivant :



7. Activité anti-oxydante

Principe du test de DPPH

Les radicaux libres comme le DPPH sont reconnus pour accepter un électron ou un proton pour former des molécules diamagnétiques stables. Le DPPH dissous dans le méthanol donne une solution colorée en pourpre et réagit avec des molécules réductrices par perte stœchiométrique, la coloration alors change en fonction du nombre d'électrons ou de protons consommés (Laguerre et *al.*, 2007 ; Rohan et *al.*, 2018).

La mesure de l'absorbance se fait par spectrophotomètre à 517nm, et le calcul de pourcentage de piégeage de DPPH est réalisé par la formule suivante :

$$P(\%) = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

Avec : AC (absorbance de control DPPH ; AE (absorbance de l'échantillon aqueux AA ou éthanolique ETA)

- **Préparation de la solution de DPPH**

On mélange 80ml de méthanol avec 20 ml de l'eau distillée et 0,004g de DPPH, on agite et on couvre avec le papier aluminium.



Figure 11 : Solution de DPPH

- **Préparation des extraits**

L'ensemble des extraits et des poudres des mixtures (probiotiques et prébiotiques) préparés ont été soumis au test de DPPH afin d'évaluer leur activité anti oxydante.

Le tableau ci-dessous présente l'ensemble des extraits (aqueux et éthanoliques) préparés à base des poudres des mixtures (probiotiques et prébiotiques) et les gels (extraits de la chair des tiges et fruits de gombo), gel de la chair des tiges de gombo enrichie par la poudre des graines de lin et les mucilages bruts de la chair des tiges et fruits de gombo.

Tableau V : Extraits utilisés dans le test de DPPH

Extraits aqueux	<ul style="list-style-type: none"> • 0,25 g de chaque mixture (probiotique et prébiotique) dans 10 ml d'eau distillée. • 0,25 g de mucilage de fruits de gombo dans 10 ml d'eau distillée. • 0,25g de mucilage de la chair des tiges de gombo dans 10ml d'eau distillée.
Extraits éthanoliques	<ul style="list-style-type: none"> • 0,25 g de chaque (probiotique et prébiotique) dans 10 ml d'éthanol. • 0,25 g de mucilage de fruit de gombo dans 10 ml d'éthanol. • 0,25g de mucilage de la chair des tiges de gombo dans 10ml d'éthanol.
Extraits purs	<ul style="list-style-type: none"> • Mucilage de la chair des tiges de gombo

- Mucilage de fruits de gombo

➤ **Mode opératoire**

Le mode opératoire de l'activité antioxydante est présenté selon le schéma suivant :

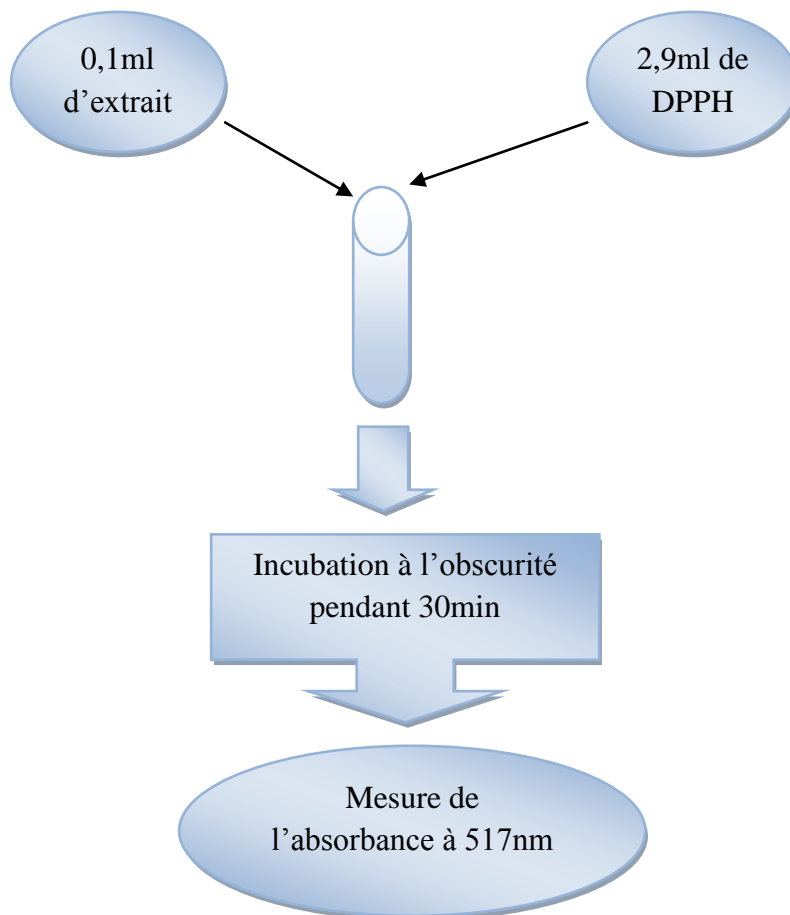


Figure 12 : Protocole de réduction de DPPH.

Le blanc de DPPH = 1,08nm à 517nm

8. Antibiogramme

Principe

La méthode des disques a été adoptée pour réaliser l'antibiogramme des bactéries lactiques des mixtures séchées. Les poudres des mixtures (probiotiques et prébiotiques) ont été revivifiées etensemencées à la surface de la gélose Mueller –Hinton, un disque pré-imprégné d'une dose connue d'antibiotique a été déposé à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration minimale

inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits (CASFM, 2019).

Mode opératoire

La revivification des poudres des mixtures (probiotiques et prébiotiques) a été réalisée dans le bouillon M17 glucosé puis les suspensions ont été incubées pendant 24 h à 42°C.

La standardisation des suspensions bactériennes a été réalisée en respectant une densité optique comprise entre 0,8 à 0,1.

La réalisation de l'antibiogramme se fait par la préparation de la suspension bactérienne qui sera suivie par l'ensemencement de cette dernière, on imbibe un écouvillon stérile, des stries serrés seront réalisés sur toute la surface de la boîte de Pétri contenant la gélose MH.

Par la suite, le dépôt des disques se fait à l'aide d'une pince stérile toute en respectant les conditions aseptiques.

Interprétation

Le diamètre du cercle autour du disque de l'antibiotique correspond à la zone d'inhibition des bactéries. Plus le diamètre est petit plus la souche bactérienne est résistante à l'antibiotique, plus le diamètre est grand plus la souche bactérienne est sensible.

9. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nos gels (gel du fruits de gombo et le gel extrait de la chair des tiges de gombo) a été effectuée sur 2 souches microbiennes : *Staphylococcus aureus* ATCS 25923, et la souche de *Escherichia coli* 25922ATCC.

Principe

La méthode de diffusion sur gélose a été réalisée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après la durée d'incubation à la température du germe testé.

Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour le repiquage des bactéries est la gélose Mueller-Hinton (MH).

Préparation des disques

Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre ont été préparés et mis dans un tube à essai pour les stériliser dans un autoclave et les garder jusqu'à leur utilisation.

Préparation des précultures

Les souches bactériennes à tester (*Staphylococcus aureus* ATCS 25923 et *Escherichia coli* 25922ATCC) ont été ensemencées sur la gélose nutritive et incubées pendant 18 à 20 h à 37°C.

Standardisation

A partir des pré-cultures réalisées un prélèvement à l'aide d'une pipette Pasteur de est réaliser pour quelques colonies des souches utilisées ,et introduites dans 10ml d'eau physiologique stérile pour avoir une suspension bactérienne bien homogénéisée et d'une densité optique comprise entre 0,8 et 0,1 à une longueur d'onde 620 nm selon Benhamou et *al.* (2008).

Mode opératoire

Les disques préparés ont été imbibés de 10 µl de chaque gel (extrait de la chair des tiges et du fruit de gombo).

La gélose Mueller-Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laisser refroidir.

Les boîtes de Pétri ont été ensemencées par les souches bactériennes isolées (*Staphylococcus aureus* ATCS 25923 et *Escherichia coli* 25922ATCC) par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, en tournant chaque fois la boîte environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les gels (extraits de la chair des tiges et du fruits de gombo) à tester ont été déposés à la surface de la gélose.

Les boîtes sont incubées dans une étuve de 37°C pendant 18 à 20 h.

Interprétation des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui représente la sensibilité des souches vis-à-vis des gels (Ponce et *al.*, 2003).

Souche dite résistante : diamètre < à 0,8 cm

Souche sensible : diamètre compris entre 0,9 et 1,4 cm

Souche très sensible : diamètre compris entre 1,5 et 1,9 cm

Souche extrêmement sensible : diamètre > à 2,0 cm.

10. Analyse des groupements fonctionnels par IR

La spectroscopie Infra-Rouge permet l'identification des groupements fonctionnels dans le but déterminer de la composition d'un échantillon.

Dans notre cas, toutes les mixtures (prébiotiques et probiotiques) en poudres ont été analysées par IR afin de détecter la structure et la composition biochimique de bactéries lactiques en présence des groupements fonctionnels des matrices de prébiotiques utilisées et en présence du lait.

11. Analyse de la microstructure par le MEB

La microstructure des poudres de mixtures (probiotiques et prébiotiques) stockées à température ambiante durant un mois a été réalisée en utilisant le Microscope Electronique à Balayage environnemental (MEB) de marque Philips Electro-scan avec un grossissement de 1000×, 250× et 100×, sous pression de 0,7 à 0,8 torr, une accélération du faisceau d'électron de 20 keV et à une température de 20°C.

Cette analyse a pour but de montrer l'impact de prébiotique et le séchage appliqué sur la morphologie des probiotiques (bactéries lactiques).

Chapitre V :

Résultats et discussion

Les résultats de certains paramètres biochimiques des mixtures pré-biotiques et bactéries lactiques élaborées sont résumés dans le tableau VI et la figure 13.

Tableau VI : Certains paramètres biochimiques des mixtures prébiotiques et bactéries lactiques

	Temps de coagulation (min)	Volume de synérèse (ml)	DO max à 595nm	μ max (min^{-1})	% d'inhibition du DPPH	Taux de Flavonoïdes (mg EQ/g Extrait)	Température de séchage et de coagulation ($^{\circ}\text{C}$)
Mixture 1	15	10	0,6166 $\pm 0,1814$	0.01	0,264 $\pm 0,0382$	0,41 $\pm 0,338$	45
Mixture 2	40	/	0,89 $\pm 0,39$	0.073	0,233 $\pm 0,1977$	1,566 $\pm 0,057$	
Mixture 3	30	/	0,55 $\pm 0,55$	0.083	0,227 $\pm 0,0285$	1,4 $\pm 0,1$	
Mixture 4	20	/	0,89 $\pm 0,39$	0.073	0,233 $\pm 0,1977$	1,566 $\pm 0,057$	
Référence	/	/	/	/	0,305 $\pm 0,0244$	1,375 $\pm 0,0353$	

M1 : matrice du lait + bactéries lactiques

M2 : matrice du gel extrait de la chair de tiges de gombo+ bactéries lactiques

M3: matrice du gel de fruits de gombo + bactéries lactiques

M4 : matrice du gel extrait de chair des tiges de gombo et de la poudre des graines de lin + bactéries lactiques.

1. Résultats de croissance des bactéries lactiques dans les différentes matrices alimentaires

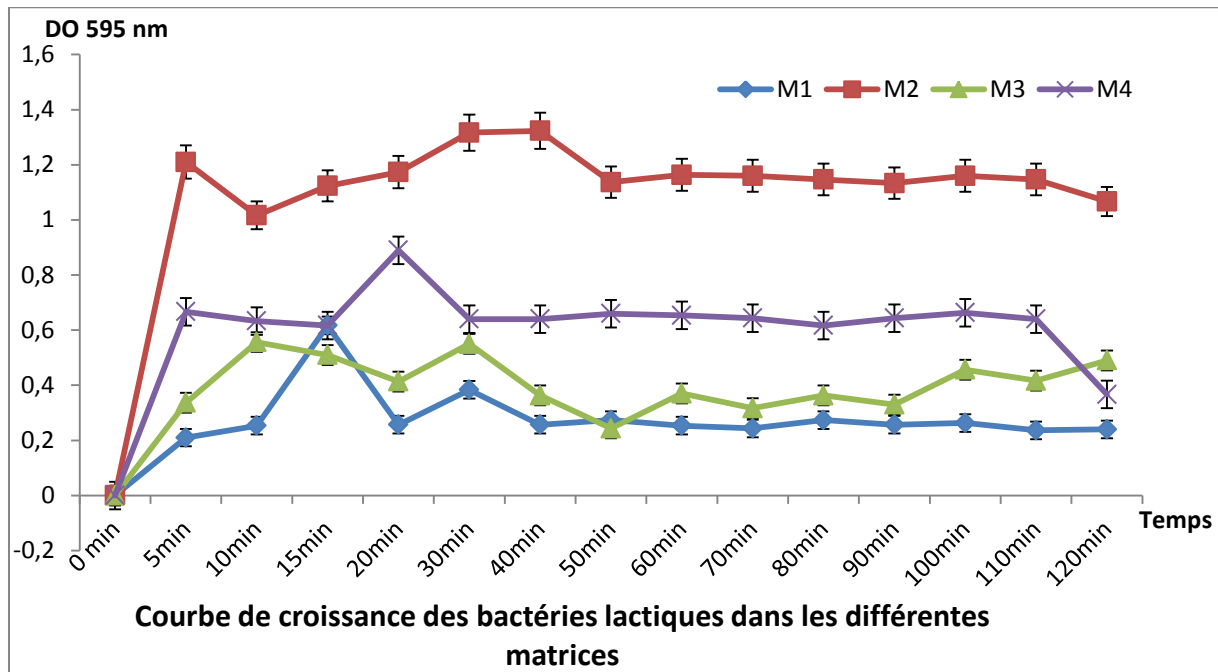


Figure 13 : Courbes de croissance des bactéries lactiques dans les différentes matrices.

M1 : matrice du lait + bactéries lactiques

M2 : matrice du gel extrait de la chair de tiges de gombo+ bactéries lactiques

M3 : matrice du gel de fruits de gombo + bactéries lactiques

M4 : matrice du gel extrait de chair des tiges de gombo et de la poudre des graines de lin + bactéries lactiques.

Nous avons constaté une augmentation de la densité optique des bactéries lactiques en fonction du temps, dans les différentes matrices de prébiotiques. Le suivi de la croissance a permis de déterminer les phases de la croissance (latence, d'accélération, exponentielle et stationnaire), et la vitesse spécifique maximale de la croissance des bactéries lactiques qui a été déterminée pendant la phase exponentielle en utilisant les courbes semi-logarithmiques selon l'équation suivante : $\mu_{max} = \frac{(\ln DO_2 - \ln DO_1)}{t_2 - t_1}$, et la DO max des bactéries lactiques.

Nous remarquons d'après la figure 13, qu'une DO max=1,32 a été observée chez les bactéries lactiques fermentées dans la matrice gel extrait des tiges de gombo (M2) durant une

durée de 40 min, tandis que, dans les autres matrices sont enregistrées des valeurs moyennes de DO M4 (DO_{max}=0,9), M1 (DO_{max}=0,6) et M3 (DO_{max}=0,58).

Les bactéries lactiques présentent des vitesses de croissance presque similaires ($\mu_{max}= 1.32 \text{ min}^{-1}$ et $\mu_{max}= 0.9 \text{ min}^{-1}$) en utilisant les matrices M2 et M4. Par contre, elles présentent des taux de croissance faibles ($\mu_{max}= 0.6 \text{ min}^{-1}$ et $\mu_{max}= 0.58 \text{ min}^{-1}$) respectivement en utilisant les matrices M1 et M3. En comparant nos résultats à ceux de Benahmed Djilali et *al.* (2018) qui ont travaillé sur l'extrait et la poudre de feuilles de vigne testés pour leur potentiel prébiotique et les ferments lactiques comme probiotiques qui ont démontré que la fermentation s'est achevée plus rapidement dans les échantillons supplémentés en extraits végétaux que dans le témoin qui est le lait, et l'ajout du mélange de bactéries lactiques avec de la poudre de vigne a provoqué une réduction du temps de coagulation de 70 à 85% par rapport à l'utilisation de bactéries lactiques seules.

2. Résultats de tenue en flavonoïdes des différentes mixtures

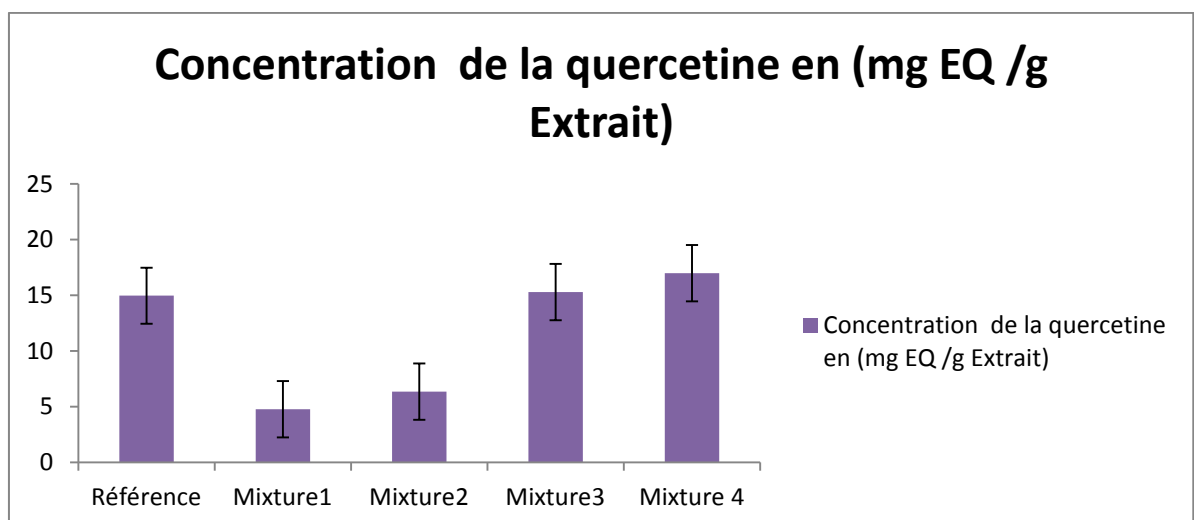


Figure 14 : Histogramme des concentrations en flavonoïdes des différentes matrices fermentées estimées en (mg Equivalent Quercetine /g d'extrait)

Mixture 1 : le lait +BL ; mixture 2 : gel de la chair de tige de gombo+ BL ; mixture 3 : gel de fruits de gombo +BL ; mixture 4 : gel de la chair de tige de gombo et la poudre de graines de lin + BL ; Référence : bactéries lactiques.

Les résultats de la figure 14 montrent que, les deux mixtures (3 et 4) possèdent des concentrations importantes en flavonoïdes qui sont respectivement (15,27 (mg EQ/g) et 16,97

(mg EQ/g)). Nos résultats confirment l'étude de Liao et *al.* (2012) qui ont montré que les différentes parties d'*Abelmoscus esculentus* contiennent des composés phénoliques et des flavonoïdes. Les graines de lin sont aussi plus riches en flavonoïdes par rapport à l'extrait de la graine de *Nigella sativa*. Les deux autres mixtures (1 et 2) possèdent des valeurs 4,76(mg EQ/g) et 6,35(mg EQ/g) respectivement. La présence des flavonoïdes dans l'échantillon de référence avec une valeur de 14,95 (mg EQ/g) est justifiée par la présence d'un agent cryoprotecteur utilisé pour la conservation des bactéries lactiques qui est d'origine végétale.

3. Résultats de l'activité antioxydante

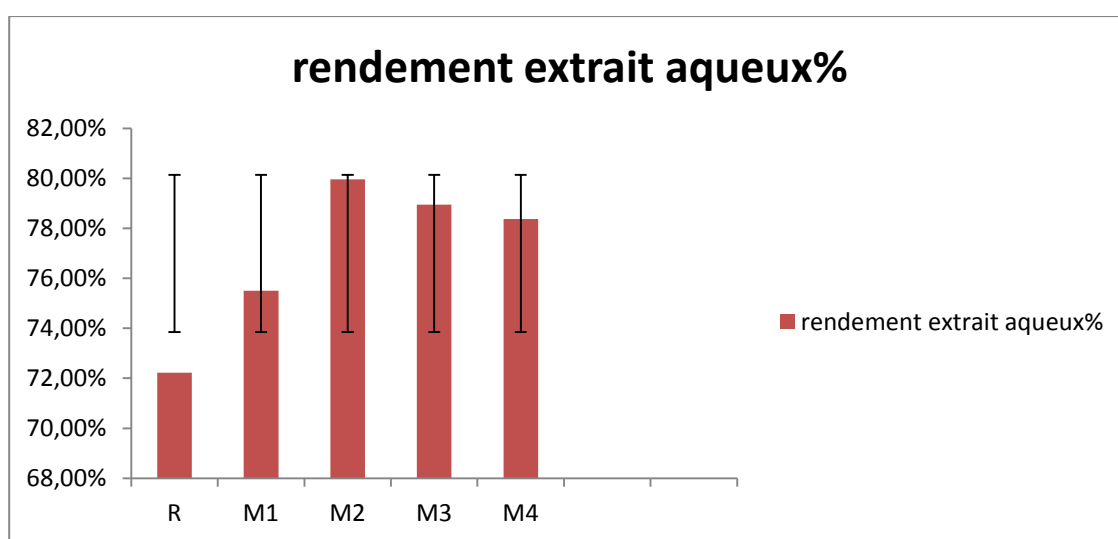


Figure 15 : Inhibition du radical DPPH (%) par les extraits aqueux des mixtures.

M 1 : le lait + BL ; M 2 : gel de la chair de tige de gombo + BL ; M3 : gel de fruits de gombo +BL ; M 4 : gel de la chair de tige de gombo et la poudre de graines de lin + BL ; R : bactéries lactiques.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de piégeage de radical libre DPPH en fonction de la concentration des extraits des échantillons qui ont permis d'obtenir la concentration de l'extrait pour laquelle 50% de radical de DPPH est piégé. Selon les résultats de la figure 15 on a remarqué que les quatre mixtures (M1, M2, M3, M4) ont une activité antioxydante similaire qui pourraient être suggérés pour leur utilisation en agroalimentaire, en cosmétique et en industrie pharmaceutique. Notamment, l'extrait aqueux de mucilage de fruits de gombo présente le meilleur pourcentage de réduction du DPPH qui égale à 90,71%. Nos résultats sont comparables à d'autres travaux réalisés sur l'activité antiradicalaire

d'extraits des plantes par Mansouri et *al.* (2005); Bet et *al.* (2005) ; Samaniego sanchez et *al.* (2007). Ces auteurs ont montré l'existence d'une corrélation entre le pouvoir antiradicalaire et la teneur en composés phénoliques et ces derniers sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires.

4. Résultats de séchage des quatre mixtures

L'aspect des poudres des mixtures fermentées est présenté dans la figure ci-dessous.

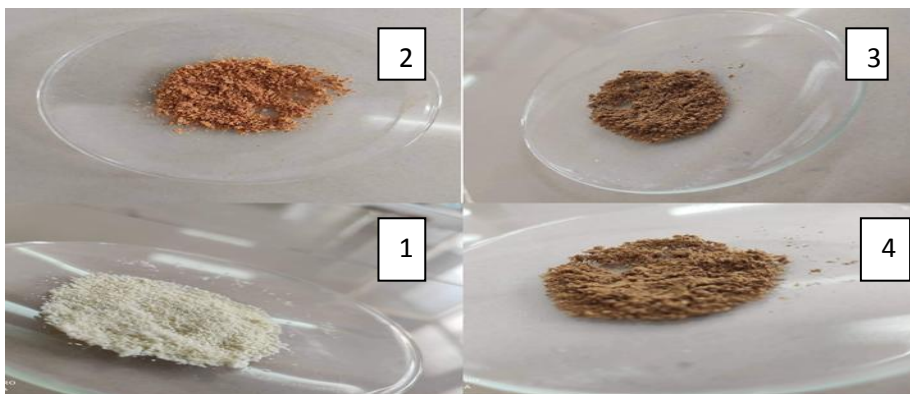


Figure 16 : ensemble de poudres obtenues. Dont **1** : Poudre de mixture de lait + BL ; **2** : Poudre de la mixture de gel de la chair de tige de gombo + BL ; **3** : Poudre de la mixture de gel de fruit de gombo et les BL poudre de mixture de lait + BL ; **4** : Poudre de la mixture de la chair de tige de gombo et la poudre des graines de lin + BL.

Nous remarquons d'après la figure 16 que la mixture M1 (lait plus bactéries lactiques) présente une couleur blanche. Cependant les autres mixtures fermentées possèdent une couleur marron lié à la couleur initiale des gels utilisés.

5. Résultat de l'observation microscopique des bactéries lactiques des mixtures

L'observation microscopique des mixtures fermentées obtenues a démontré que, les bactéries lactiques fermentées dans les prébiotiques sont viables sous forme de cocci et bâtonnet. L'observation a été effectuée le premier jour de l'obtention des poudres puis après un mois de conservation à température ambiante. La figure 17 représente l'observation des bactéries lactiques à $t = 0$.

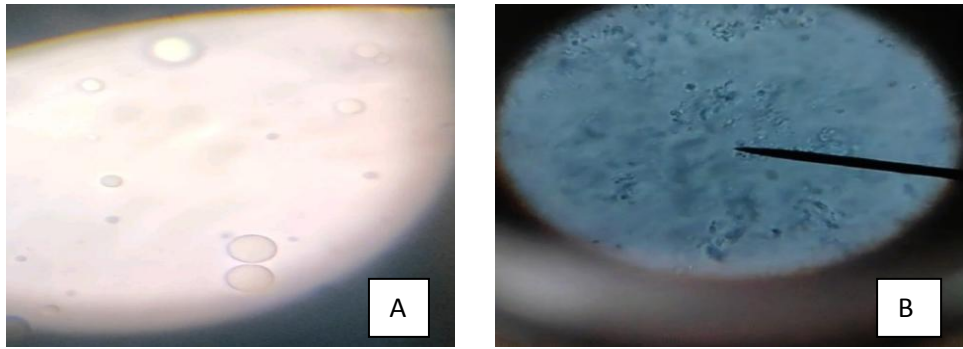


Figure 17 : Observation microscopique des mélanges fermentés obtenus à t=0 : **A :** Mixture du lait + BL et **B :** Mixture des extraits de la chair de tige de gombo+BL sous le microscope photonique.

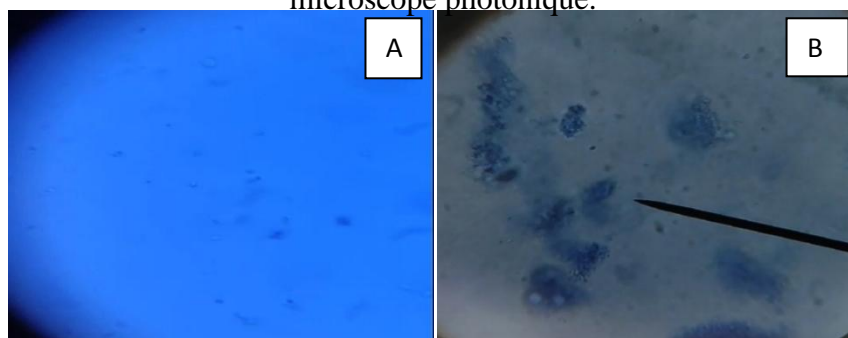


Figure 18 : Observation microscopique des mélanges fermentés et conservés un mois à température ambiante **A :** Mixture du lait + BL et **B :** Mixture des extraits de la chair des tiges de gombo + BL.

6. Résultats de dénombrement des bactéries lactiques

Les résultats du dénombrement des bactéries lactiques après le séchage et la conservation à température ambiante durant un mois sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Nombre d'UFC/g des bactéries lactiques dans les mélanges en poudre après un mois de conservation à température ambiante.

	Nombre d'UFC par gramme de produit initial		
	$10^{-2} / 10^{-3}$	$10^{-3} / 10^{-4}$	$10^{-4} / 10^{-5}$
Mixture 1	3×10^5 UFC/g	$1,5 \times 10^6$ UFC/g	$7,27 \times 10^6$ UFC/g
Mixture 2	–	$4,09 \times 10^6$ UFC/g	$2,16 \times 10^7$ UFC/g
Mixture 3	–	$3,2 \times 10^6$ UFC/g	$2,1 \times 10^7$ UFC/g

Mixture 4	$3,19 \times 10^5$ UFC/g	$3,21 \times 10^6$ UFC/g	$1,17 \times 10^7$ UFC/g
------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

Mixture 1 : lait et les BL; **Mixture 2** : extrait de la chair des tiges de gombo et les BL, **Mixture 3** : gel de fruits de gombo et les BL, **Mixture 4** : extrait de la chair des tiges de gombo et la poudre des graines de lin et les BL.

Les résultats obtenus révèlent que les bactéries lactiques sont disponibles en concentrations élevées dans les différentes matrices après un mois de stabilité à température ambiante (Figure 19).

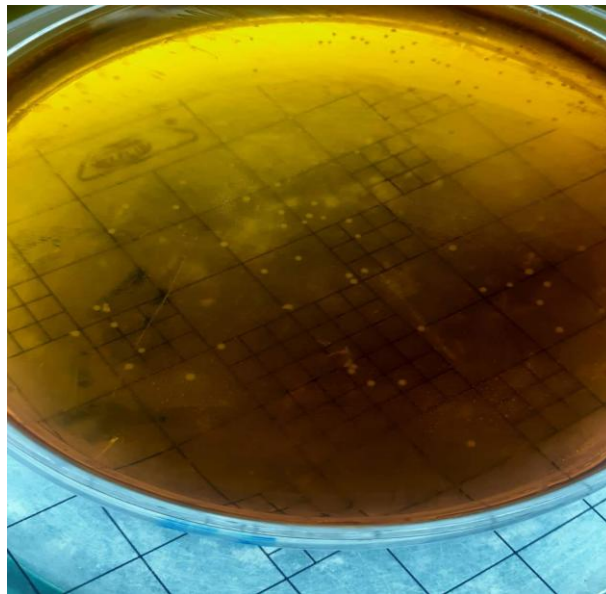


Figure 19 : Observation des bactéries lactiques de mixture de gel de la chair de tige de gombo et les BL.

7. Résultats du pH

Les deux gels préparés à base de fruits et de la chair de tige de gombo sont neutres avec de valeurs de 7,08 et 7,16 respectivement.

8. Résultats de l'antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme montrent que les bactéries lactiques des mixtures fermentées sont résistantes contre l'antibiotique oxacilline.

9. Résultats de l'activité antimicrobienne

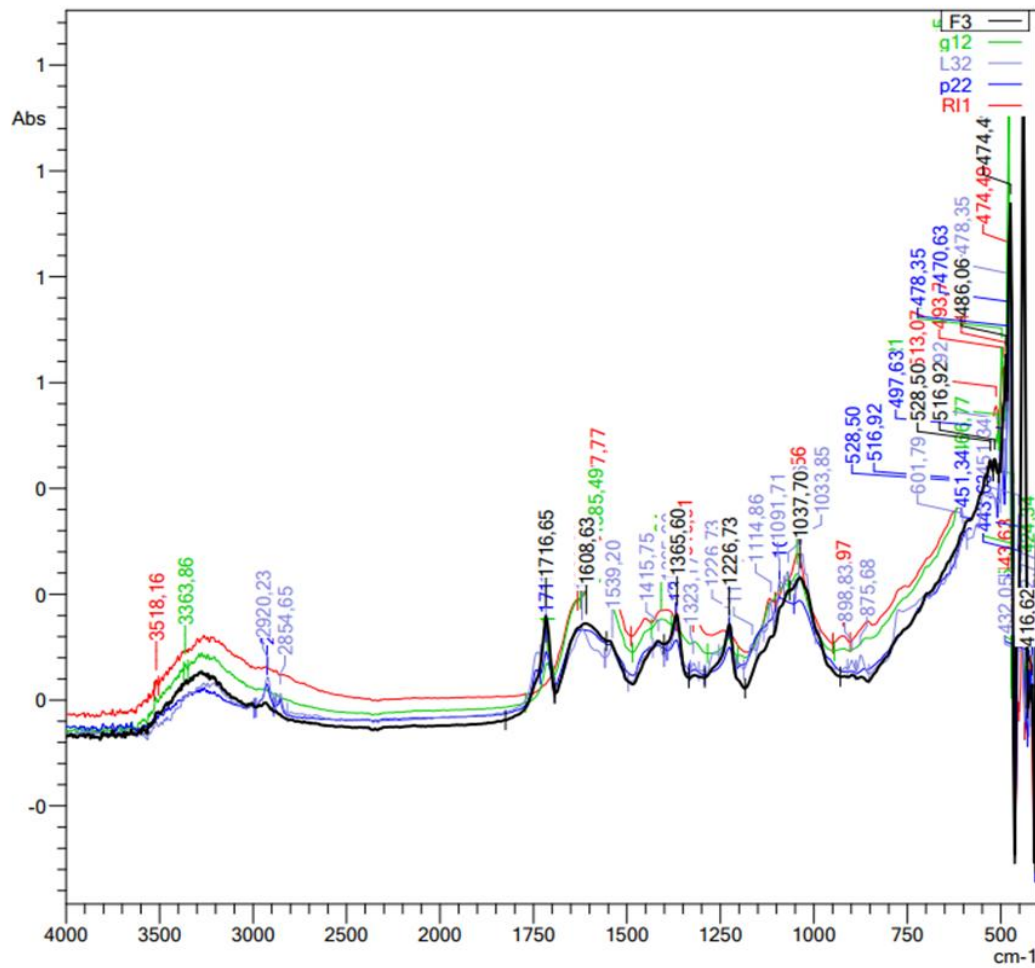
Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que, nos gels (de fruits de gombo et l'extrait de la chair des tiges de gombo) n'ont aucun effet inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches (*S.aureus* ATCS 25923, et *Escherichia coli* ATCC 25922) testées.

L'absence de zones d'inhibition de ces souches est probablement due à la quantité testée (10 µl) qui est insuffisante pour inhiber ces souches résistantes. De plus, la richesse de nos gels en protéines et en glucides aussi peut favoriser la croissance des souches bactériennes testées.

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne pourrait influencer aussi sur les résultats. Natarajan et *al.* (2005) et Fazeli et *al.* (2007) ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour l'étude de l'activité dans le cas des extraits aqueux et éthanolique, que la méthode de diffusion en milieu gélosé.

10. Résultat d'analyse des groupements fonctionnels par IR

Les spectres de l'ensemble des mixtures sont les mêmes, les mêmes longueurs d'ondes d'absorption sont observées avec une légère différence d'intensité. Nous pouvons dire que, les différentes matrices ont préservé l'intégrité des bactéries lactiques.



C:\LabSolutions\LabSolutions\IR\Data\F3.ispd
 C:\LabSolutions\LabSolutions\IR\Data\R11.ispd
 C:\LabSolutions\LabSolutions\IR\Data\g12.ispd
 C:\LabSolutions\LabSolutions\IR\Data\p22.ispd
 C:\LabSolutions\LabSolutions\IR\Data\L32.ispd

Figure 20 : Spectres d’Infrarouge des mélanges fermentés.

F : mixture de gel de fruit de gombo et les BL ; **G :** mixture de la chair de tige de gombo et les BL ; **L :** mixture de lait et les BL ; **P :** mixture de la chair de tige de gombo avec la poudre des graines de lin et les BL ; **R :** ferments lactiques (référence).

Tableau VIII : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels de mixture fermentée à base de bactéries lactiques et du gel de fruits de gombo.

Fréquence ν (cm ⁻¹)	Liaison	Groupe et groupements	Intensité relative	Type de vibration	Observations
1716,6	C=O	Cétone	F (Fort)	A (Allongement)	Cétones à l'état liquide
1608,63	C=C	Noyau benzène	m	A (Allongement)	Si la substitution est

		substitue Hydrocarbures aromatiques mononucléaires	(moyen)		complexe la fréquence change légèrement
1365,60	C-H	-(CH ₃) ₂ - Hydrocarbures aliphatique à chaines ramifiées	m (moyen)	D (Déformation)	Doublet de même intensité
1226,73	N-H	Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires	m (moyen)	/	Amides secondaires
1037,70	C-O	Alcool primaire	F (Fort)	A (Allongement)	/////
528,50	/	/	/	/	/////
516,92	/	/	/	/	/////
486,06	/	/	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bonde IR utilisée
474,49	/	/	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bonde IR utilisée
416,62	/	Chlorophylle	/	/	////

Tableau IX : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels de mixture fermentée à base de bactéries lactiques et du gel de la chair de tige de gombo.

Fréquences ν (cm ⁻¹)	Liaison	Groupe et groupements	Intensité relative	Type de vibration	Observations
---	---------	--------------------------	-----------------------	----------------------	--------------

3363,86	N-H	Aminoacides et leurs sels	F (Fort)	/	Sels métalliques. 2 bandes
1712,79	C=O	-CHO Aldéhydes	F (Fort)	A (Allongement)	Groupe C=O arylé
1585,49	O-C=O	Acide Carboxylique	F (Fort)	A (Allongement)	////
1408,04	C-H	-CH ₂ - Cétones	F (Fort)	D, c (Déformation, cissoring)	Groupe méthylique situé en α du groupe carbonyle
1226,73	N-H	Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires	m (moyen)	/	Amides secondaires
1045,42	C-O	Alcool primaire	F (Fort)	A (Allongement)	///
509,21	/	/	/	/	///
497,63	/	/ Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bonde IR utilisée
466,77	/	/ Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bonde IR utilisée
451,34- 432,05- 424,34	/	Chlorophylle	/	/	////

Tableau X : Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels de mixture fermentée de bactéries lactiques et du gel de la chair de tige de gombo et la poudre des graines de lin.

Fréquences ν (cm ⁻¹)	Liaison	Groupe et groupements	Intensité relative	Type de vibration	Observations
2924,09	O-H	Alcools et Phénols	f (faible)	A (Allongement)	Groupe hydroxyle lié par liaison hydrogène

					intramoléculaire (eau liée)
1716,65	C=O	Cétones	F (Fort)	A (Allongement)	Cétones aliphatiques ou cycliques à plus de 6 chaînons en milieu polaire
1369,46	C-H	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ Hydrocarbures aliphatiques à chaînes ramifiées	m (moyen)	D (Déformation)	Doublet de même intensité
1226,73	N-H	Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires	m (moyen)	/	Amides secondaires
1091,71	O-C	C-O-C Ethers	F (Fort)	A, a (Allongement, assymétrique)	Ethers aliphatique
528,50	/	/	/	/	////////
516,92	/	/	/	/	//////
497,63	/	Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bonde IR utilisée
478	/	Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bonde IR utilisée
451,34-442,63-441,62-424,34-	/	Chlorophylle	/	/	////

Tableau XI: Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels de mixture fermentée à base de bactéries lactiques et du lait.

Fréquence ν (cm ⁻¹)	Liaison	Groupe et groupements	Intensité relative	Type de vibration	Observations
2920,23-2854,65	O-H	Alcools et Phénols	f (faible)	A (Allongement)	Groupe hydroxyle lié par liaison

					hydrogène intramoléculaire (eau liée)
1716,65	C=O	Cétones	F (Fort)	A (Allongement)	Cétones aliphatiques ou cycliques à plus de 6 chainons en milieu polaire
1620,21-1539,20	N-H	NH ₂ Aminoacides et leurs sels	m (moyen)	/	Amino-acides dipolaires forme libre
1415,75	C-H	-CH=CH ₂ - Hydrocarbure éthylénique	f (faible)	(Déformation)	Déformation dans le plan de -CH ₂
1365,60	C-H	-(CH ₃) ₂ - Hydrocarbures aliphatiques à chaînes ramifiées	m (moyen)	D (Déformation)	Doublet de même intensité
1323,17	C-O	Acides carboxyliques	F (Fort)	A (Allongement)	////
1226,73	N-H	Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires	m (moyen)	/	Amides secondaires
1165,00	C-H	CH ₃ -CH CH ₃ Hydrocarbures aliphatiques à chaînes ramifiées	F (Fort)	D(Déformation)	////
1114,86	C-O	Alcool secondaire Alcools et Phénols	F (Fort)	A(Allongement)	////
1091,71-1068,56	O-C	C-O-C Ethers et peroxydes	F (Fort)	A, a (Allongement, assymétrique)	Ethers aliphatiques
1033,85	C-O	Alcool primaire	F (Fort)	A(Allongement)	////
898,83-875,68	C-H	substitution 1, 3,5 Hydrocarbures aromatiques	m (moyen)	D (Déformation)	Déformation en dehors du plan

		mononucléaires			
601,79	C-H	-C≡H Hydrocarbures acétyléniques (non symétriques)	F (Fort)	D (Déformation)	A ne pas confondre avec N-H (large)
489,92	/	Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bande IR utilisée
451,34-432,05-412,77	/	chlorophylle	/	/	/

Tableau XII: Fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des ferments lactiques.

Fréquence ν (cm ⁻¹)	Liaison	Groupe et groupements	Intensité relative	Type de vibration	Observations
3518,16	N-H	NH ₂ libre Amide primaire, secondaire et tertiaires	F (Fort)	A (Allongement)	NH ₂ libre d'amides primaires
1577,77	[O-C=O]	Acides carboxyliques	F (Fort)	A, a (Allongement, assymétrique)	////////
1346,31	C-O	Acides carboxyliques	F (Fort)	A (Allongement)	////////
1041,56	C-O	Alcool primaire	F (Fort)	A (Allongement)	//////////
921,97	C-H	Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	A (Allongement)	Sans intérêt
513,07	/	/	/	/	////////
493,78	/	Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bande IR utilisée
486,06	/	Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires	/	D (Déformation)	Non disponible dans la bande IR utilisée
443,63-420,48	/	chlorophylle	/	/	////

Nous avons résumé la comparaison des Cinq tableaux de l'infrarouge dans le tableau XIII suivant :

Tableau XIII : Comparaison des Cinq tableaux de fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels des mixtures fermentées.

	Mêmes groupements	Autres groupements
Mixture 1	Alcools et Phénols ; Hydrocarbures linéaires à chaînes linéaires ; chlorophylle	NH ₂ Aminoacides et leurs sels, -CH=CH ₂ - Hydrocarbure éthylénique, -(CH ₃) ₂ - Hydrocarbures aliphatiques à chaînes ramifiées, CH ₃ -CH CH ₃ Hydrocarbures aliphatiques à chaînes ramifiées, Acides carboxyliques, substitution 1, 3,5 Hydrocarbures aromatiques mononucléaires, - C≡H Hydrocarbures acétyléniques (non symétriques), C-O-C Ethers et peroxydes, Cétones, Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires.
Mixture 2		Aminoacides et leurs sels, Aldéhydes -CHO, Acide Carboxylique, Cétones, Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires.
Mixture 3		(CH ₃) ₂ - Hydrocarbures aliphatique à chaînes ramifiées, Noyau benzène substitue Hydrocarbures aromatiques mononucléaires, Cétone, Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires.
Mixture 4		CH ₃ -CH ₂ CH ₃ Hydrocarbures aliphatiques à chaînes ramifiées, C-O-C Ethers, Cétones, Bandes caractéristiques Amides primaires, secondaire et tertiaires.
Référence		Acides carboxyliques, NH ₂ libre Amide primaire, secondaire et tertiaires.

Selon le tableau XIII nous constatons que, les quatre mixtures fermentées possèdent trois groupements (Alcools et Phénols, Hydrocarbures linéaires à chaîne linéaires et Chlorophylle) qui constituent les bactéries lactiques.

Aussi, les groupements Cétones et Amides primaires, secondaires et tertiaires (bandes caractéristiques) constituent les quatre mixtures fermentées M1 M2, M3 et M4. Ainsi le groupement Hydrocarbure aliphatique à chaînes ramifiées constitue les mixtures M1, M3 et M4 ; également le groupement Acide carboxylique constitue la mixture M2.

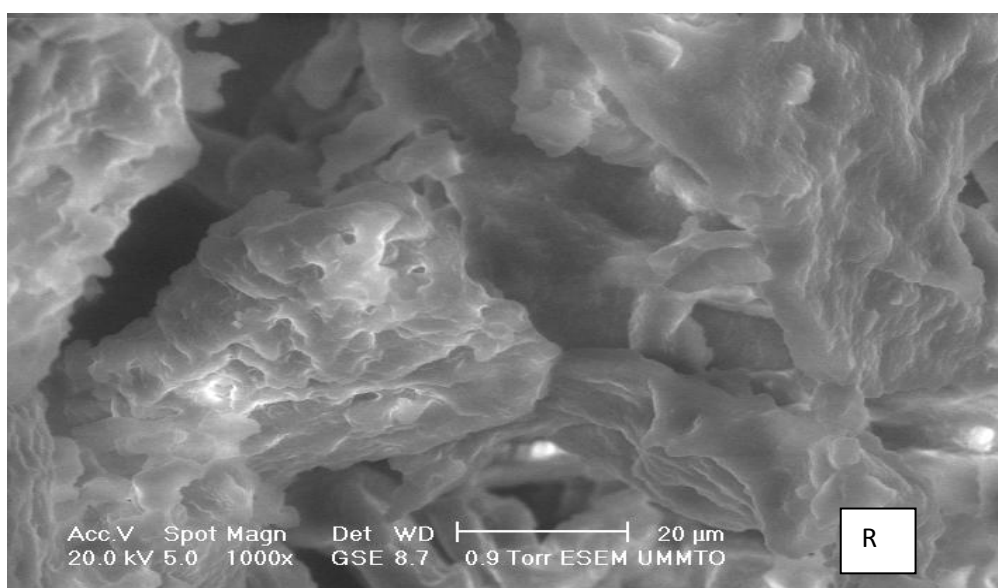
La présence d'autres groupements dans les mixtures est liée à la composition de chaque matrice utilisée.

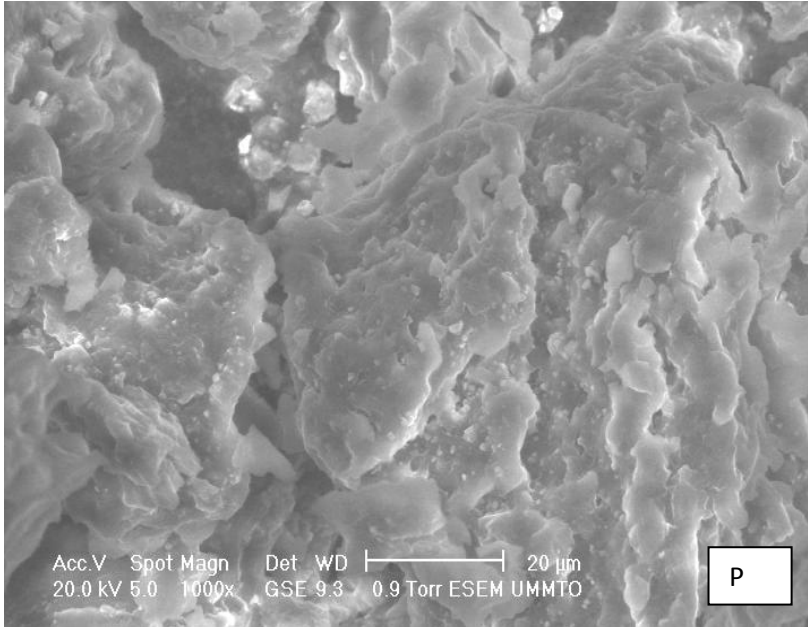
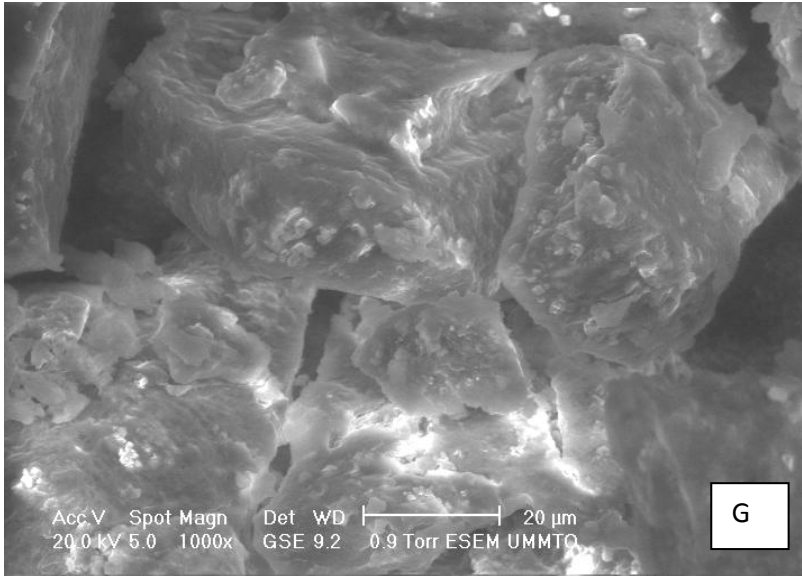
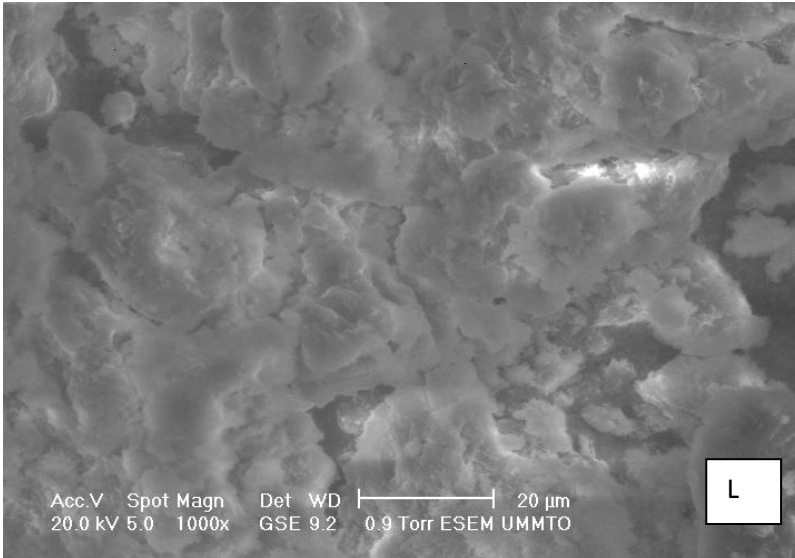
11. Résultats d'analyse de la microstructure par le MEB

L'analyse de MEB (Figure 21) nous a démontré que la structure des bactéries lactiques est la même pour l'ensemble des matrices (le lait, extrait de la chair des tiges de gombo, le gel de fruit de gombo, extrait de la chair des tiges de gombo plus la poudre des graines de lin).

Nous remarquons que, les bactéries lactiques sont emprisonnées dans une matrice de polymère non poreux qui est similaire à celle des bactéries lactiques de référence (lyophilisées)

Nous pouvons conclure que les gels de fruit ou de la chair de gombo peuvent être utilisés comme agents protecteurs des bactéries lactiques et d'autres bactéries.





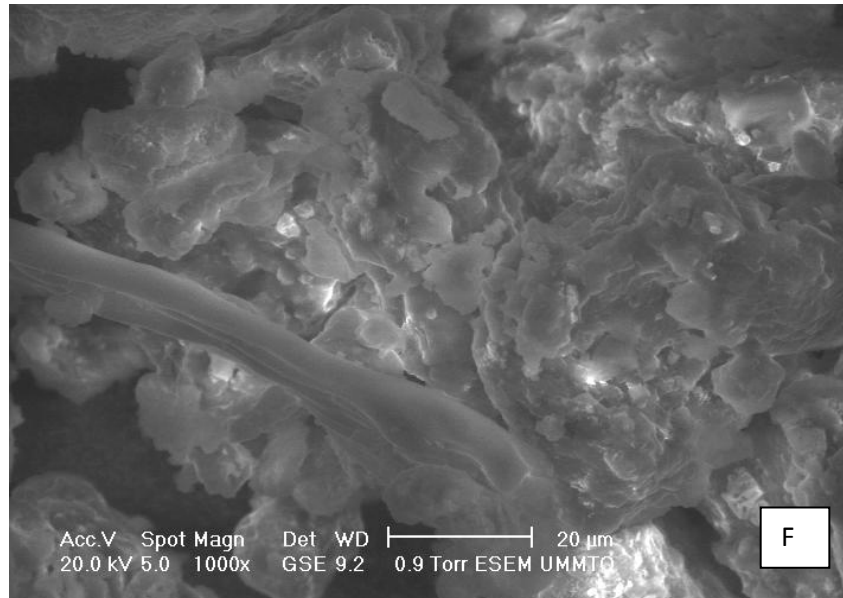


Figure 21 : Microstructures des bactéries lactiques dans les différentes mixtures.



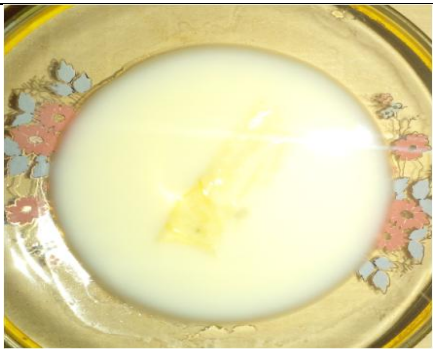
R : référence des bactéries lactiques ; **L** : lait et bactéries lactiques ; **G** : gel de la chair de tige de gombo et bactéries lactiques ; **P** : gel de la chair de tige de gombo avec la poudre de graines de lin et bactéries lactiques ; **F** : gel de fruit de gombo et bactéries lactiques.

12. Essais de coagulations après trois mois de conservation à température ambiante

Nous avons refait des essais de coagulation pour les trois mixtures fermentées mentionnées dans le tableau XIV dans le lait pendant deux heures à 45°C pour confirmer que les bactéries lactiques conservées dans les trois matrices à température ambiante sont toujours viables.

Les résultats de coagulation sont positifs pour la mixture fermentée dans le gel de fruit de gombo et les bactéries lactiques qui a coagulé au bout d'une heure et demi ; et pour les deux autres mixtures fermentées on elle juste commencé a coaguler le lait au bout d'une heure et 45 minutes pour la mixture fermentée de gel de tige de gombo et la poudre des graines de lin + BL et deux heures pour la mixture fermentée de gel de tige de gombo + BL. Cela signifie que les matrices prébiotiques ont bien conservé les probiotiques (bactéries lactiques) à température ambiante après trois mois.

Tableau XIV : Essais de coagulation des mixtures fermentées dans le lait après trois mois de conservation.

	Aspect	Temps de coagulation	La température
Mixture 3 fermentée de gel de fruit de gombo + BL		Après 1h et 30 min	45 °C
Mixture 2 fermentée de gel de tige de gombo + BL		Après 2h le lait a commencé la coagulation	
Mixture 4 fermentée de gel de tige de gombo + graines de lin +BL		Après 1h et 45 min le lait a commencé la coagulation	

Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à étudier la possibilité de fermenter les bactéries lactiques dans des matrices de prébiotiques (gels extraits de tiges, fruits de gombo et la poudre des graines de lin). La stabilité des mixtures fermentées à température ambiante a été aussi étudiée.

Les résultats obtenus montrent que, les bactéries lactiques ont une croissance élevée dans les gels des tiges de gombo et de la chair de tige de gombo plus la poudre des graines de lin.

L'évaluation du potentiel antioxydant a révélé que, la mixture fermentée à base du mucilage de fruit de gombo possède un meilleur pouvoir antioxydant (90,71%) en comparant aux autres mixtures.

Le dosage des flavonoïdes des extraits de bactéries lactiques lyophilisées et les différentes mixtures élaborées a montré la présence des concentrations élevées dans les mixtures à base de gel de la chair de tige de gombo et de gel de la chair de tige de gombo plus la poudre des graines de lin en comparant avec les autres mixtures.

Les bactéries lactiques des différentes mixtures sont résistantes vis-à-vis de l'antibiotique oxacilline et elles sont stables dans les différentes matrices après séchage et stockage à température ambiante durant 1 mois.

L'analyse par MEB révèle la présence des bactéries lactiques dans les mixtures fermentées dans un polymère non poreux.

Comme perspectives de cette étude, il serait intéressant de développer d'autres propriétés biologiques des bactéries obtenues (structure des protéines).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

À

- Angiosperm Phylogeny Group. PR2CISEZ l'auteur (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, 161(2), 105-121.)
- Axelsson, Lars. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and physiology In Lactic Acid and Functional Aspects. Salminen S., Wright A.v., Ouwhand A.3e Ed., Marcel Dekker, pp: 1-66.

Б

- Bailey, L. H., Bailey, E. Z. (1976). Hortusthird: a concise dictionary of plants cultivated in the United States and Canada. Liberty Hyde Bailey Hortorium. New York, ÉTATS-UNIS: Macmillan.
- Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M.M, malaise, W, and Sener, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of Citrulluscolocyn this seeds extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 3(1): pp35-40.
- Boudresa, W., Nekkaa, R. (2017). Etude de l'activité antibactérienne de bactérie isolé a partir d'un produit laitiers fermenté : le yaourt brassé, thèse de doctorat. université des frères Mentouri Constantine faculté dès la science de la nature et de la vie, 141p
- Badis, A., Llaouabdia-Sellami, D., Guetarni, M. Kihal et R. Ouzrout, (2005). Caractérisations phénotypique des bactéries lactique isolé partir de lait cru de chèvre de deux population caprins locales Arrabiaet kabyle. Scitechnol., 23 .30-37
- Benahmed Djilali, A., Besombes, C., Allaf, K., Benseddik, A., Benzehra, A., Hadj Arab, F., & Taleb, D. (2018). Z. jujuba and spirulina. Extracts as prebiotic to improve milk clotting and develop functional yoghurt. Exploring Microorganisms Recent Advances in Applied Microbiology, 154.

Г

- CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International) Crop Protection Compendium. (2018). Linum usitatissimum data sheet. Disponible à l'adresse: <https://www.cabi.org/cpc/datasheet/31053> [16 février 2018].

- Chopra, RN., Nayar, SL., and Chopra IC. (1986).Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
- Chevalier, A. (1940). L'origine, la culture et les usages de cinq Hibiscus de la section Abelmoschus (à suivre).Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 20(225), 319-328.

Đ

- Dribine, A., &Khellal. (2018). évaluation de l'activité antibactérienne de quelque souches bactérie lactique .thèse de doctorat de l'université de Bouira, 75p.
- Daun, J., Barthet, V, Chornick, T, Duguid, S. (2003). Structure, composition and varietydevelopment of flaxseed. In: Thompson, L., Cunanne, S. edition. Flaxseed in Human Nutrition. Second Edition Champaign, Illinois, p1-40.

Ɖ

- El Hociene, M. (2021). Etude d'oxycarenum hyalinipennis ravageur de gombo (systématique, écologie et méthodes de lutte). Mémoire de Master. Université de Biskra, 5p.

Ƒ

- Franklin, W. Martin. (1982). "Okra, Potential Multiple Purpose Crop for the Temperate Zones and Tropics". Economic Botany; 36 (3): 340– 345.
- Fenton M .P. (1987). An investigation into the source of lactic acid bacteria in bacteria in GRAS .Sil.ge. JAppL Bacteriaol. 62; 181-188.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. The Journal of applied bacteriology, 66, 365-378.
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in foods, Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report.

Ɠ

- Gaspar, P., Carvalho, A. L., Vinga, S., Santos, H. &Neves, A. R. (2013). From physiology to systems metabolic engineering for the production of biochemicals by lactic acid bacteria. Biotechnology advances, 31, 764-788.

- Gbohaïda, V., Agbangnan, DCP., Nonviho, G., Gnansounou, M., Bothon FTD, Bogninou, GSR., Avlessi, F., Sohounhloué CKD. (2016). Chemical study and evaluation of the influence of Two physical parameters on polyphenols extraction from carapa procera leaves. World Journal of Pharmaceutical Research, 5(12): 108- 119.
- Getinet, A., and Nigussie, A. (1997): Highland Oil Crops: A three decade research experience in Ethiopia. Research Report No. 30. Institute of Agricultural Research, Addis Ababa, Ethiopia.
- Gill, K.S. (1987): Linseed. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- Grieve, A. (1984). Modern Herbal. Penguin.

H

- Hamon, S., &Koechlin J. (1991). The reproductive biology of okra. 1. Study of the breeding system in four Abelmoschus species. Euphytica, 53(1): 41-48.
- Hamon, S.(1988). Organisation évolutive du genre Abelmoschus (gombo): coadaptation et évolution de deux espèces de gombo cultivées en Afrique de l'Ouest (A. esculentus et A.caillei). précisez l'édition
- HeliJroy, RD., Shanna Lundy, MS., ChadEriksen, B A., et Beth K. (2007). Flaxseed : A Review of HealthBenefits, Pennington Nutrition N°5, 4p
- Halligudi, N. (2012). Pharmacological properties of flaxseed: Review Hygeia: journal.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., et Salminen, S. (2014). "Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic." Nature reviews. Gastroenterology & hepatology.

I

- Jhala Amit, J., et Hall, LM. (2010). Flax (Linum usitatissimum L.): Current Uses and Future Applications: Australian Journal of basic and Applied Sciences 4(9): 4304-4312
- Jain, N., Jain, R., Jain, V., Jain, S. (2012). A review on: Abelmoschus esculentus. Pharmacia; 1(3):84–9.

ƒ

- KÖNIG, H., FRÖHLICH, J. (2009). Biology of micro-organismes on grapes, in must and in wine. PRINGSULAKAO, THONGAMN., SUWANNASAIN., ATTHAKORW., POT IVEJL KAND RANGSIRUJIA., partial characterization of bacteriocines produced by lactic acid bacteria isolated from thai fermented meat and fish products .food

ℓ

- Laguerre, M., Lopez-Giraldo, L.J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. OCL Vol 14(5), pp278-292
- Liao, H., Dong, W., Shi, X., Liu, H., Yuan, K. (2012). *Pharmacognosy Magazine*, 8(30): 156-161. DOI: 10.4103/0973-1296.96570.

ℳ

- Moyin-Jesu, E I. (2007). Use of plant residues for improving gsoilfertility, podnutrients, rootgrowth and podweight of okra (*Abelmoschus esculentum*L.). *Bioresource Technology*, 98 (11), 2057-2064.
- MENOUAR, M. (2015). Effet de l'action combinée bentonite et la salinité sue les bilans hydrique et minéral de gombo (*Abelmoschus esculentus*. L). Mémoire de magister. Université d'ORAN, 29p.
- Mozzi, F., Raya, R, Vignolo, G. & LOVE, J C. (2016). *Biotechnology of lactic acid bacterianovel applications 2 e*.
- Muñoz, R., Arena, M. E., Silva, J. & Gonzalez, S. N. (2010). Inhibition of mycotoxin-producing *Aspergillus nomius* VSC 23 by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 1019-1026.
- Marius, C., Gerard, V., Antoine, G. (1997). Le gombo, *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, une source possible de phospholipides. *Agronomie et Biotechnologies. Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 4(5): 389-392.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. (2005) Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe dae palm fruit(*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. 89: 411-420.



- Qhureshi, Z. (2007). Breeding investigation in bhendi (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). Master Thesis, University of Agriculture Sciences, GKVK, Bangalore for drugs and medicines vol 4 (2): 70-77



- Rubatzky, VE., & Yamaguchi, M. (1997): World vegetables: principles, production, and nutritive values. Chapman and Hall, New York, USA.
- Rohan, S., Phatak., Chitra, C., Khanwelkar, Kailas, D., Datkhile, Anup S. Hendre. (2018). Investigation of antioxidant and antidiabetic activities of *Murrayakoenigiile* avesmethanolic and aqueous extract by in-vitro methods. *Int. J. Res. Pharm. Sci.*, 9(4), pp1460-1464.
- Roberfroid, M. B. (2007). "Inulin-type fructans: functional food ingredients." *The Journal of nutrition* 137(11): 2493S-2502S.



- Sneath P.H.A., (2001). The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria- Bacterial Nomenclature. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Garrity G. M., Boone D.R., Castenholz R. W 2e Ed., 721: 83-88.
- Streit F., Corrieu G. and Béal C., (2008). Influence des conditions de récolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolérance de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* CF11 thèse de doctorat .l'institut des sciences et l'industrie du vivant et de l'environnement (agro paris Tech)
- SALMINENS., WRIGHT, A .V., AND OUWEHAND, A. ,(2004) : microbiological and fonctionl aspects. Mrecl Dekkar.Inc., U.S.A. p628.control, Ed Sspringer –Verlag., Berlin Heidelberg.109p
- Stiles, M. E., & Holzapel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36, 1-29.
- Shankul, K. (2014). Physicochemical, Phytochemical and toxicity studies on gum and mucilage from plant *Abelmoschus esculentus*. *Journal of Phytopharmacology*, 3(3): 200-203.

- Samaniego-Sanchez, C., Gonzalez, A.M.T., Garcia-Parrilla, M. C., Granados, J.J.Q., Garcia de la Serrana, H. L., Martinez, M. C. L, (2007). Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol conten. *Analytica Chimica Acta*. 593: 103-107.

℥

- VandammeP.,Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K., and Swwings J. (1996): Polyphasic taxonomique, a consensus aooroch to bacterial systematic. *Microbiology and molecular biologyreviews*, 60, 407-438.
- Vatakit, T., & Leenanon, B. (2017). Effects of prebiotics and cells encapsulation on survivability of *Lactobacillus pentosus* Pr01 in probiotic fermented purple glutinous rice beverage. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences Paper*, 19(1): 1-10.

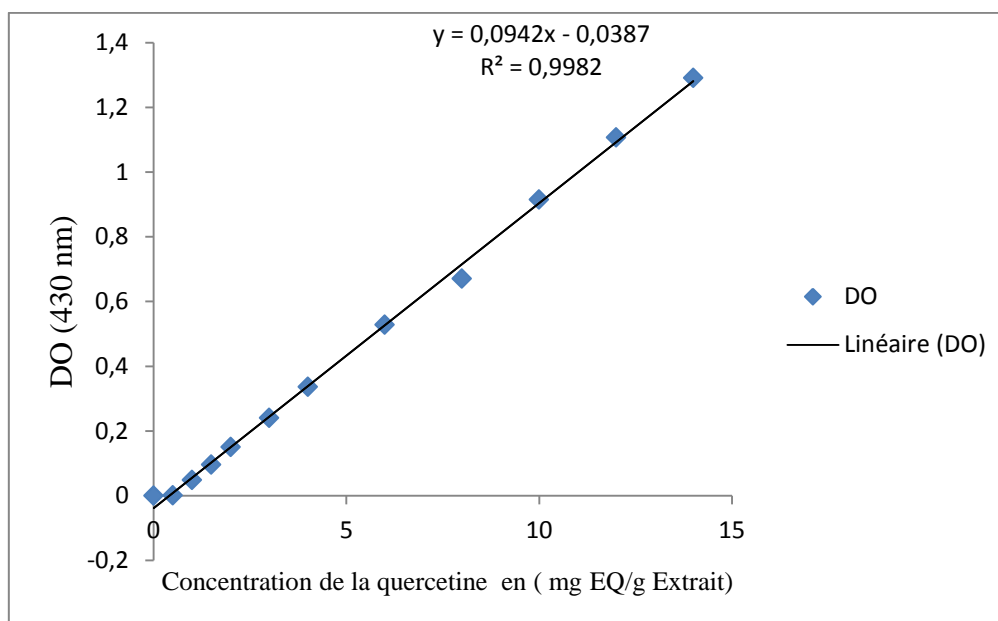
Annexes

Annexes 01: Matériel et réactifs utilisés pour l'analyse physico-chimique.

Appareillage	Verrerie	Milieux et Réactifs	Autres instruments
pH mètre	Pipettes graduées	Milieu MRS	Spatule
Spectrophotomètre	Tubes à essai	Bouillon M17	Papier aluminium
Agitateur	Béchers	glucosé	Papier film
magnétique	Eprouvettes	Bouillon nutritif BN	Papier watman
Etuves	Entonnoir	Trichlorure d'aluminium	Portoirs
Réfrigérateur	Flacons	AlCl ₃	Compresses stériles
Plaque chauffante	Cuves	Ethanol	Ecouvillons
Bain marie	Fioles	Méthanol	Anse à boucle
Autoclave	Erlen Meyer	DPPH	Micropipette
bec benzène	Boîtes de pétri		Embouts
	Pipettes Pasteur		Pince
	Lames		Gants stériles
			Seringues
			Disques
			d'antibiotiques

Annexe 02 : Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' $AlCl_3$ en utilisant comme standard la quercétine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrait.



Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de l'extrait.

Annexe 03 : Ensemble des boîtes de l'antibiogramme.



Dont : **L** : mixture de lait et les BL; **R** : référence bactérie lactique ; **P** : mixture extrait de chair des tiges de gombo plus grain de lin et les BL; **F** : mixture gel de fruit de gombo et les BL; **G** : mixture extrait de chair des tiges de gombo et les BL.

Annexe 04 : Ensemble des boîtes de l'activité antimicrobienne.

